



INR- JA TT-NT-TASOVERTAILU FIMLAB LABORATORIOT OY:N JYVÄSKYLÄN JA TAMPEREEN TOIMIPISTEIDEN VÄLILLÄ

Pauliina Terho

Mari Saarinen-Valta

Opinnäytetyö
Huhtikuu 2015
Bioanalytiikan
koulutusohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma
12SABIOJ

TERHO, PAULIINA & SAARINEN-VALTA, MARI:

INR- ja TT-NT-tasoverailu Fimlab Laboratoriot Oy:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden välillä

Opinnäytetyö 70 sivua, joista liitteitä 10 sivua
Huhtikuu 2015

Varfariinihoidon seurannassa käytetään tromboplastiiniajan INR-tulostusta. Varsinkin hoidon alkuvaiheessa on INR-määrittäviä tehtävä tiheään. Potilaan hoidon kannalta luotettavat ja yhteneväiset laboratoriotulokset ovat tärkeitä, koska päätös potilaan tarvitsemasta hoidosta tehdään niiden perusteella. Opinnäytetyön tarkoituksena oli vertailla Fimlab Laboratoriot Oy:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden välistä INR- ja TT-NT-tulostasoa. Tulostason yhtenevyyden selvittäminen tuli ajankohtaiseksi, kun Keski-Suomen sairaanhoitopiirin laboratoriolikelaite Keslab siirtyi osaksi Fimlab Laboratoriot Oy:tä huhtikuussa 2014.

Opinnäytetyö oli kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus. Tutkimusta varten valittiin päivittäin tutkituista näytteistä sekä Jyväskylän että Tampereen toimipisteestä sata kappaletta mahdollisimman eritasoisia INR-näytettä. Erotellut plasmanäytteet lähetettiin toiseen laboratorioon ja analysoitiin seuraavana päivänä. Molemminsuuntaisella kuljetuksella pyrittiin arvioimaan näytteiden kuljetuksen vaikutusta tulostasoon. Jyväskylässä analysointi tehtiin Sysmex CA-7000 -analysaattorilla ja Tampereella Stago STA-R Evolution -analysaattorilla. Aineisto analysoitiin käyttäen Microsoft® Excel -taulukkolaskentaohjelmaa ja IBM® SPSS®-tilasto-ohjelmaa. Tutkittavina muuttujina olivat potilastuloksissa käytettävien tromboplastiiniajan prosentti- sekä INR-tulostusmuotojen lisäksi myös varsinainen hyytymisaika sekuntitulokseksi, jonka perusteella edeltävät muuttujat lasketaan.

Jyväskylässä ja Tampereella saadut tulokset erosivat tilastollisesti erittäin merkitsevästi toisistaan sekä tromboplastiiniajan sekuntituloksessa että tromboplastiiniajan INR-tulostuksessa. Tampereella käytettävä analysaattori antoi pääsääntöisesti korkeampia arvoja kuin Jyväskylässä käytettävä analysaattori. Sen sijaan tromboplastiiniajan prosenttitulostuksessa ei ollut eroa analysaattoreiden välillä. Korrelaatiokertoimet ja selitykasteet olivat suuria kaikilla tutkituilla muuttujilla, eli analysaattoreiden tulokset vastasivat toisiaan hyvin. Vaikka tilastollinen tulostasoero havaittiin INR-tulostuksessa, analysaattoreiden väliset erot olivat pieniä, 8,8–9,1 %. Näin ollen eroilla ei todennäköisesti ole kliinistä merkitystä tai vaikutusta potilaan saamaan hoitoon. Analysaattoreiden välillä havaitut erot voivat olla seurausta laitteista, mittauksista tai käytetyistä reagensseista. Erot tulostasoissa olivat aina samansuuntaiset riippumatta näytteiden analysointijärjestyksestä, joten kuljetuksen mahdollinen vaikutus oli pieni verrattuna laitteiden vaikutukseen. Jatkotutkimusaiheena voisi tulostasoverailun yhteydessä tutkia tarkemmin kuljetuksen vaikutusta sekä analysaattoreiden välistä eroa ääriarvoilla.

Asiasanat: tasoverailu, tromboplastiiniaika, INR, hemostaasi, varfariini

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

TERHO, PAULIINA & SAARINEN-VALTA, MARI:

A Comparison of the Result Level in the International Normalised Ratio of Prothrombin Time and the Prothrombin Ratio between the Jyväskylä and Tampere Offices of Fimlab Laboratories Ltd

Bachelor's thesis 70 pages, appendices 10 pages
April 2015

The international normalised ratio of prothrombin time (INR) is used in monitoring the warfarin treatment. Especially in the beginning of the treatment, frequent INR analyses are required. In view of the patient's treatment, reliable and consistent laboratory results are important because the patient's treatment decisions are based on them. The purpose of this thesis was to compare the INR and prothrombin ratio (PTR) result levels between the Jyväskylä and Tampere laboratories of Fimlab Laboratories Ltd. The consistency of laboratory results became an issue when the Central Finland Health Care District's laboratory Keslab became part of Fimlab Laboratories Ltd in April 2014.

The study was a quantitative study for which 100 blood samples were selected from already analysed samples both in Jyväskylä and Tampere based on their INR results. Plasma was separated from each blood sample tube and sent to another laboratory and analysed the following day. In order to evaluate the effect of transportation on the result levels, the samples were transported in both directions. Measurements were performed in Jyväskylä by using the Sysmex CA-7000 coagulation analyser and in Tampere by using the Stago STA-R Evolution coagulation analyser. The data were analysed by using Microsoft® Excel and the IBM® SPSS® statistical software. The examined variables were PTR and INR, which are the actual laboratory results given to the patient in addition to the actual clotting time in seconds (PT) that is used in the calculation of the above variables.

The results obtained from the analysers in Jyväskylä and Tampere differed significantly from each other statistically in the PT and in the INR, but not in the PTR. In general, the analyser in Tampere gave higher values. The correlation coefficients and coefficients of determination were high in all examined variables, so the results of the analysers matched each other very well. Although statistically significant differences in INRs were found between the analysers, the differences were small, between 8.8% and 9.1%, and they are unlikely to be of any clinical relevance. The differences observed between the analysers may have resulted from using different analysers, measuring principles or reagents. The differences in the result levels were always parallel, regardless of the order of the sample analysis, so the potential impact of transportation on the level of results was small compared to that of the analysers. Further studies are needed to assess the impact of transportation on the result levels in result comparisons. In addition, the difference between the analysers could be studied by using more extreme values than those used in this study.

Key words: result level comparison, prothrombin ratio (PTR), international normalised ratio of prothrombin time (INR), haemostasis, warfarin

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT	8
2.1	Hemostaasi.....	8
2.2	Hemostaasijärjestelmän ulkoisen reitin toiminnan mittaaminen	10
2.2.1	Tromboplastiiniaika	10
2.2.2	Tromboplastiiniajan INR-tulostus.....	11
2.3	Varfariini.....	12
2.3.1	Varfariinin historia	12
2.3.2	Varfariinin vaikutus hyytymisjärjestelmään	12
2.3.3	Varfariinin käyttö ja hoidon seuranta.....	13
3	HYTYMISTUTKIMUSTEN PREANALYTIikka	15
3.1	Laboratoriotutkimusprosessi.....	15
3.2	Potilaan tunnistaminen.....	15
3.3	Näytteenottokohdan valinta	16
3.4	Näytteenotto hyytymistutkimuksia varten	18
3.5	Näytteenottovälineet, näytteen käsittely ja kuljetus.....	19
4	LAADUNVARMISTUS HYTYMISTUTKIMUKSISSA.....	21
5	MÄÄRITYKSISSÄ KÄYTETYT ANALYYSILAITTEET	23
5.1	Sysmex CA-7000 hyytymistutkimusanalysaattori.....	23
5.2	Stago STA-R Evolution hyytymistutkimusanalysaattori.....	25
6	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT	27
7	OPINNÄYTETYÖN VAIHEET, TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYS	29
8	AINEISTO.....	30
9	AINEISTON ANALYSOINTI.....	32
10	TULOKSET	35
11	POHDINTA.....	49
12	TUTKIMUKSEN LUOTETTAVUUS	52
12.1	Reliabiliteetti ja validiteetti.....	52
12.2	Tutkimuksen luotettavuuden arviointi kvantitatiivisessa tutkimuksessa.....	53
13	TIETEELLINEN KÄYTÄNTÖ JA ETIikka	54
	KIITOKSET	55
	LÄHTEET	56
	LIITTEET	61
	Liite 1. Reagenssituoteseloste MediRox Owren's PT.....	61
	Liite 2. Reagenssituoteseloste STA-SPA+	62

Liite 3. Sysmex CA-7000- ja STA-R Evolution- hyytymistutkimusanalysointilaitteiden antamat tulokset.	63
Liite 4. STA-R Evolution- ja Sysmex CA-7000- hyytymistutkimusanalysointilaitteiden antamat tulokset.	67

1 JOHDANTO

Varfariini on tällä hetkellä maailman käytetyin lääke oraalisessa antikoagulaatiohoidossa (Horsti & Uppa 2006, 10). Suomessa tähän tarkoitukseen käytettävänä lääkkeenä on rekisteröity Marevan® (varfariinatrium). Varfariini on kumariiniantikoagulanttien ryhmään kuuluva lääke, joka estää K-vitamiinista riippuvien hyytymistekijöiden: FII (protrombiini), FVII, FIX ja FX synteesiä. Samalla myös luonnollisten antikoagulanttien, proteiini C:n ja proteiini S:n synteesi estyvät. (Ebeling 2000, 562.) Vuonna 2007 Suomessa sai varfariinihoitoa 75–84 -vuotiaista 15 % ja yli 85 -vuotiaista 25 %. Joka vuosi hoidettavien potilaiden määrä kasvaa 5-10 %, kun väestö ikääntyy ja varfariinilääkityksen hoitotarkoitukset laajenevat. (Puhakka 2011, 7.)

Varfariinin terapeuttilinen alue on hyvin kapea ja suuria annoksia käytettäessä on vuoto-riski suuri. Toisaalta liian pieni annos altistaa tukoksille. (Mahlamäki 2004, 321.) Oikein annosteltuna ja käytettynä varfariini on tehokas ja turvallinen käyttää. Lääkkeen yhtenä hyvänä puolena on se, ettei näytteenotto ole lääkkeenottoajasta riippuvainen. (Lassila ym. 2011, 2754.) Varfariinihoidon tehoon ja komplikaatioriskeihin vaikuttavat kuitenkin monet tekijät mm. potilaan ikä, sukupuoli, ravinto, muut sairaudet, muu samanaikainen lääkitys ja jopa geneettiset tekijät. (Helin ym. 2012, 1570.) Yhteisvaikutuksia varfariinin ja muiden lääkeaineiden kanssa voi muodostua monilla farmakodynaamisilla ja -kineettisillä tavoilla (Ebeling 2000, 563).

Tromboplastiiniajan (TT-NT) mittausta voidaan käyttää erilaisten hemostaasihäiriöiden seulontaan, maksan toiminnan tutkimiseen ja hyytymistekijäkorvaushoitojen seurantaan (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 279-280, Åberg ym. 2012, 1977-1978). Mittaamalla sekä tromboplastiiniaika että aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika (APTT) voidaan osoittaa hyytymistekijöiden puutoksia vertailemalla aikojen pituuksia keskenään (Oksanen 2000, 465).

Varfariinihoidon seurannassa käytetään tromboplastiiniajan INR-tulostusta (Hirsh & Fuster 1994, 1471-1472), koska laboratorioissa käytössä olevien erilaisten reagenssien johdosta tromboplastiiniajan prosenttitulosten vertailu on ollut vaikeaa (Lassila, Pietilä & Backman 2011, 277). Hoitoa aloitettaessa on INR -määrityksiä tehtävä tiheään, koska vaste varfariinille on yksilöllinen ja lääkkeen terapeuttilinen alue on kapea (Mahlamäki

2004, 321). Lääkkeen antikoagulaatiovaikutus voi vaihdella jopa 20-kertaisesti eri henkilöiden välillä (Kallio & Lassila 2012, 667). Kun tasapaino lääkityksen määrälle on saavutettu, voidaan seuranta harventaa (Mahlamäki 2004, 321).

Suomessa on voimassa lainsäädäntö, joka velvoittaa keskussairaaloita vastaamaan alueensa laboratorioiden laadunvalvonnasta. Laadunvalvonta on jaettu sisäiseen ja ulkoiseen laadunohjaukseen. Sisäisessä laadunohjauksessa laboratorio tarkkailee omien ja kaupallisten näytteiden avulla laboratorionsa menetelmien tasoa. Jokaiselle tutkimukselle on määritetty tavoitearajat, joiden avulla pyritään siihen, että määritykset voidaan toistaa analyttisen kokonaisvirheen rajoissa (Laitinen 2004, 36.) Labquality Oy:n tavoitearajat TT- ja INR-määrittämiselle ovat $\pm 15 \%$ keskiarvosta (Labquality Oy 2014, Tromboplastiiniaika). Ulkoinen laadunohjaus on vapaaehtoista ja laadunvarmistuksen kierroksia järjestää Labquality Oy. Laboratoriot saavat analysoitavaksi näytteitä, joiden arvoja ne eivät tiedä. Laboratorion määrittämiä arvoja verrataan muiden laboratorioiden saamiin arvoihin, josta voidaan päätellä omien menetelmien taso sekä suomalaisella että kansainvälisellä tasolla. (Laitinen 2004, 38.)

Huhtikuussa 2014 Keski-Suomen sairaanhoitopiirin kuntayhtymän laboratorioliikelaitos Keslab siirtyi osaksi Fimlab Laboratoriot Oy:tä. Fimlab Laboratoriot Oy:n Tampereen toimipisteessä ja Keski-Suomen keskussairaalan toimipisteessä INR -määritykset tehdään toistaiseksi käyttäen eri laitteita ja reagensseja (kemisti Heli Tenkanen, henkilökohtainen tiedonanto 16.6.2014). Asiakkaan hoidon kannalta on tärkeää, että eri laboratorioiden tulostasot ovat yhteneviä ja vertailukelpoisia keskenään, sillä hoitava lääkäri tekee päätöksen asiakkaan hoidosta analyysituloksen perusteella, ei analysoivan laboratorion perusteella. Vertailukelpoisten laboratorioiden välillä myös tulosten siirtäminen on mahdollista. Eri laitteiden tulostasojen vertailukelpoisuuden seuraaminen on myös osa normaalia, akkreditoidun klinisen laboratorion sisäistä laadunohjausta. Fimlab Laboratoriot Oy:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden laitekannat on tarkoitus yhtenäistää ennen pitkää laiteuusintojen myötä. Opinnäytetyömme toimeksiantaja on Fimlab Laboratoriot Oy:n Keski-Suomen Keskussairaalan toimipiste Jyväskylässä ja tutkimuksemme tarkoituksena on vertailla INR- ja TT-NT- tutkimuksien tulostasoja Fimlab:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden välillä.

2 TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT

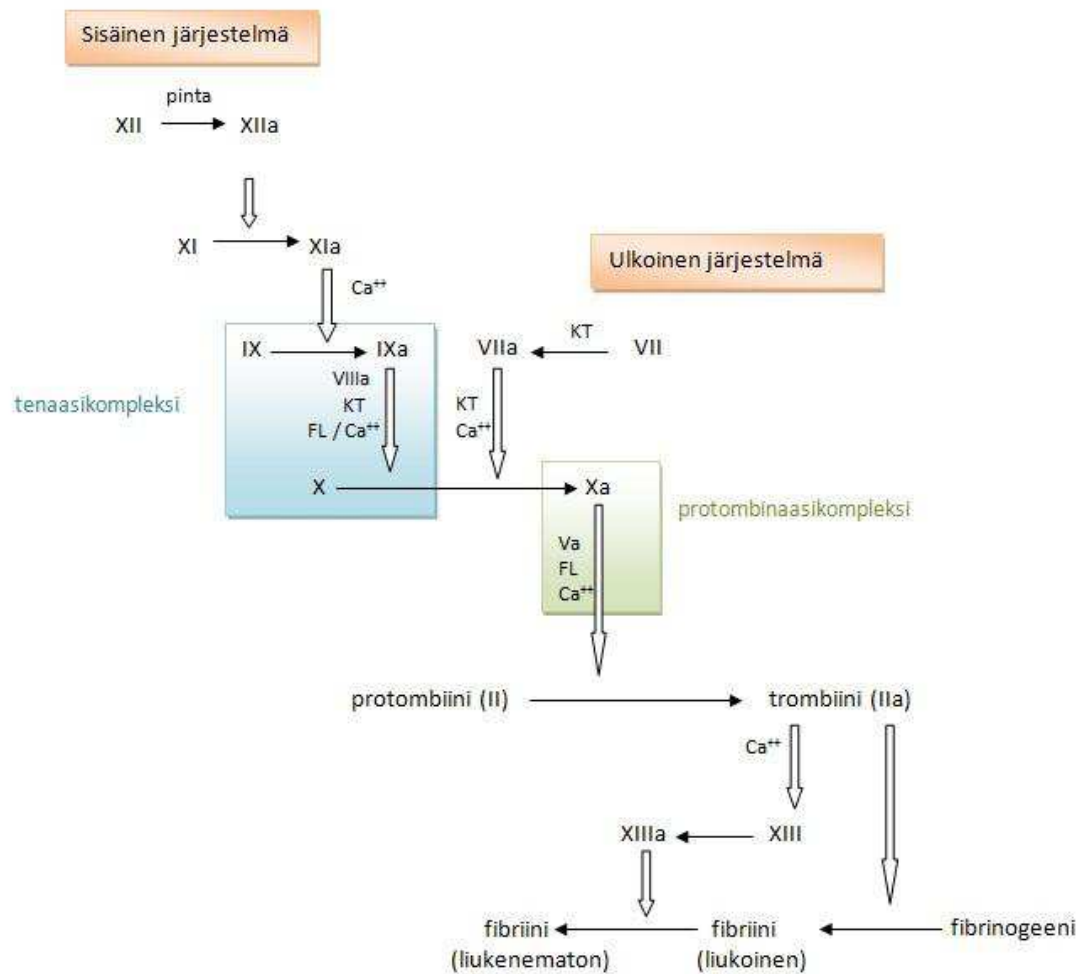
2.1 Hemostaasi

Hemostaasi eli veren hyytymisjärjestelmä on monimuotoinen tapahtumaketju, joka saa alkunsa verisuonen seinämän eli endoteelin vaurioituessa. Hemostaasi jaetaan primaariin ja sekundaariseen (pysyvään) hemostaasiin. Veren hyytymisjärjestelmän tarkoituksena on tuottaa entsyymaattisen ketjureaktion kautta trombiinia, jonka vaikutuksesta fibrinogeeni muuttuu liukenemattomaan, verkkomaiseen muotoonsa ja hyytymä muodostuu. (Lassila 2000, 453; Mahlamäki 2004, 310-312.).

Primaarihemostaasin osia ovat verisuonen seinämä ja verihiutaleet. Verisuonivaurion seurauksena suoni supistuu ja verisuonen seinämästä vapautuu hyytymistä aktivoivia tekijöitä kuten kollageenia ja von Willebrand –tekijää (vWF). Vaurion syntyessä verihiutaleet tarttuvat reseptoreillaan kiinni kollageeniin vWF:n avulla, kasaantuvat ja aktivoituvat (Mahlamäki 2004, 310-312.) Aktivoituneet verihiutaleet erittävät lisää vWF:ä ja fibrinogeenimolekyylejä sekä tuovat pinnalleen molekyylejä, joiden avulla verihiutaleet kiinnittyvät toisiinsa muodostaen aluksi löyhän veritulpan. (Lassila 2000, 452; Mahlamäki 2004, 310-312.) Primaarihemostaasin ylläpitäjänä vWF on tärkeä tekijä, koska se pysäyttää verihiutaleet verivirrasta verihiutalereseptoriensa avulla. Myös verihiutaleet tunnistavat vWF:n erikoisten solukalvoproteiiniensa avulla. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 277.)

Primaarihemostaasin käynnistyessä myös pysyvä hemostaasi käynnistyy samaan aikaan (Mahlamäki 2004, 310-312). Hyytymisjärjestelmä koostuu keskenään samanlaisten reaktioiden sarjasta (kuvio 1). Plasmassa olevat entsyymit ovat verenkierrossa inaktiivisina proentsyymeinä, mutta tarttuessaan verihiutaleisiin ne aktivoituvat paikallisesti. Yhden entsyymin aktivoituminen muuttaa ketjun seuraavan proentsyymin aktiiviseen muotoonsa. Pysyvä hemostaasi perustuu plasman hyytymistekijöiden aktivoitumiseen ja johtaa fibriinin muodostumiseen. Pysyvän hyytymisjärjestelmän aktivoituminen alkaa, kun kudostekijäksi kutsuttu, kudosten soluissa oleva pintaproteiini (tromboplastiini) joutuu kosketuksiin veren plasmassa olevien hyytymistekijöiden kanssa. Kudostekijä aktivoi hyytymistekijä FVII:n, josta hyytymiskaskadi käynnistyy. Tätä kautta hyytymisjärjestelmän käynnistymisen aktivoitumista kutsutaan ulkoiseksi tieksi. Tenaasikomp-

leksin ja protrombinaasikompleksin kautta muodostuu trombiinia. (Lassila 2000, 450; Mahlamäki 2004, 310-312.)



KUVIO 1. Hemostaasijärjestelmä, mukaillen Kallio & Lassila (2012). KT = kudostekijä, FL= fosfolipidipinta, a= aktiivinen.

Trombiini on hyytymisjärjestelmän tärkein entsyymi, joka saa aikaan hyytymän muuntamalla liukoisen fibrinogeenin liukenemattomaksi fibriiniverkoksi. Trombiinia muodostuu verihiutaleiden ja muiden solujen pinnalla. Trombiinin tuotanto aktivoi veren hyytymistekijöitä, jotka vaikuttavat puolestaan trombiinin tuotannon jatkumiseen. (Lassila 2000, 453.) Trombiini myös aktivoi verihiutaleita ja tehostaa hyytymisjärjestelmää takaisinkytkentämekanismilla. Fibriini vahvistaa verisuonivauriossa muodostunutta, primaarihemostaasin tuottamaa löyhää verihiutaletulppaa, joka ilman fibriinivahvistusta hajoaisi noin vuorokaudessa ja vuoto alkaisi uudelleen. (Lassila 2000, 450; Mahlamäki 2004, 310-312.)

2.2 Hemostaasijärjestelmän ulkoisen reitin toiminnan mittaaminen

2.2.1 Tromboplastiiniaika

Tromboplastiiniaika (TT) mittaa hyytymisjärjestelmän ulkoisen aktivaatioreitin tekijöitä. Hyytymiseen kulunut aika mitataan ja sekuntitulos suhteutetaan normaaliplasman hyytymisaikaan. Lopullinen tulos ilmoitetaan prosentteina normaalista hyytymisajasta viitevälin ollessa 70-130% (Oksanen 2007, 551; Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 279; Lassila 2012). Prosenttitulos luetaan vakiokuvaajalta, joka on muodostettu vakioplasman laimennuksista (Mahlamäki 2004, 317).

Suomessa TT- ja INR-määritykseen käytetään ns. Owren-menetelmää, jonka reagensseissa on fibrinogeenia ja hyytymistekijä FV, joiden avulla näytteeksi otettu sitraattiplasma hyydytetään. Owren-menetelmä mittaa K-vitamiinista riippuvien hyytymistekijöiden FII (protrombiini), FVII ja FX yhteisvaikutusta. Hyytymisaika on riippuvainen näiden kolmen tekijän aktiivisuudesta. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 279, Joutsu-Korhonen & Koski 2010b, 288). Owren-menetelmässä näytteen tilavuus reaktioseoksessa on vain 5% ja tarvittavan pienen plasmamäärän vuoksi menetelmä ei ole kovin herkkä preanalyttisille häiriötekijöille, kuten näytteessä olevalle sitraatille tai hepariinille (Horsti 2002, 30).

Tromboplastiiniajan mittausta käytetään mm. perinnöllisten ja hankinnaisten hemostaasihäiriöiden seulontaan, maksan toiminnan tutkimiseen ja hyytymistekijäkorvaushoitojen seurantaan (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 279-280, Åberg ym. 2012, 1977-1978). Koska hyytymistekijät muodostuvat maksassa, johtaa vaikea maksasairaus hyytymistekijöiden puutteeseen, minkä vuoksi tromboplastiiniajan mittausta voidaan käyttää myös maksan toimintahäiriön osoittamiseen. Tromboplastiiniajan mittaamista voidaan myös käyttää yhdessä APTT:n (aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika) kanssa osoittamaan hyytymistekijä VII puutos. Puutos voidaan yleensä todeta mikäli TT on pitkä ja APTT on normaali. Jos puolestaan APTT on pitkä ja TT normaali, voi se merkitä puutosta sisäisen hyytymisjärjestelmän tekijöissä. Mikäli TT ja APTT ovat molemmat poikkeavia, on kyseessä useamman hyytymistekijän häiriö, joka voi johtua maksasairaudesta, K-vitamiinin puutoksesta tai myös oraalisesta antikoagulanttihoidosta. (Oksanen 2000, 465.)

2.2.2 Tromboplastiiniajan INR-tulostus

Oraalisen antikoagulanttihoidon (varfariini) seurannassa käytetään tromboplastiiniajan INR-tulostusta (International Normalized Ratio). Tämä tulostusmuoto on otettu käyttöön, jotta voidaan välttyä tromboplastiiniajan mittaukseen käytettävien erilaisten reagenssien aiheuttamalta vaihtelulta. Eri reagensseista johtuen tromboplastiiniajan prosenttitulosten vertailu on ollut vaikeaa eri laboratorioden välillä (Lassila ym. 2011, 277.) Menetelmän käyttöönoton hyväksyi WHO (World Health Organization) vuonna 1982 (Hirsh & Fuster 1994, 1471-1472).

INR on laskennallinen arvo, joka saadaan hyytymisaikasuhteena potilaan plasmasta mitatusta hyytymisajasta ja normaaliplasmasta mitatusta hyytymisajasta. Näiden hyytymisaikojen suhde korjataan kaupallisella, reagenssieräkohtaisella herkkyysindeksillä (ISI, international sensitivity index), jotta tulos vastaisi kansainvälistä vakioareagenssilla saatavaa tulosta. (Riley, Rowe & Fisher 2000, 104-105; Mahlamäki 2004, 317; Syrjälä 1998, 573.) (kuvio 2)

$$INR = \left(\frac{\text{potilaan plasman hyytymisaika (s)}}{\text{normaaliplasman hyytymisaika (s)}} \right)^{ISI}$$

KUVIO 2. INR-laskukaava, jossa s = sekunti ja ISI= reagenssin herkkyyttä kuvaava indeksi.

Tromboplastiiniajan prosentuaalisen tuloksen ja INR-arvon suhde on käänteinen. Hyytymisaktiivisuuden laskiessa INR-arvo kasvaa eksponentiaalisesti. Antikoagulanttihoidon hoitotasolla INR reagoi herkästi muutoksiin hyytymisaktiivisuudessa, lähellä normaalitasoa eli INR-tuloksen ollessa lähellä yhtä, muutokset eivät heijastu niin herkästi INR-arvoon. (Syrjälä 1998, 573-574.) INR-tulosta tulkitaan siten, että esimerkiksi INR-tulos 2 tarkoittaa sitä, että potilaan plasma hyytyy 2 kertaa hitaammin kuin vertailuplasma, INR-tulos 3 sitä, että potilaan plasma hyytyy 3 kertaa vertailuplasmaa hitaammin jne. Alle 1 INR-arvot tarkoittavat puolestaan sitä, että potilaan plasma hyytyy vertailuplasmaa nopeammin. (Lassila 2012)

2.3 Varfariini

2.3.1 Varfariinin historia

Hyytymistekijöiden synteesiä estävien kumariinijohdosten löytäminen ajoittuu 1920-luvulle, jolloin USA:ssa todettiin naudoissa verenvuototauti. Tauti ilmeni eläimillä, jotka olivat syöneet mädäntynyttä rehua, joka sisälsi mesikkää (*Melilotus alba* ja *M. officinalis*). Ensimmäiset kliiniset kokeet tehtiin 1940-luvulla dikumarolilla, mutta kumariinijohdoksia tutkittiin myös muita tarkoituksia varten. Yksi tehokkaimmista johdoksista nimettiin vuonna 1945 varfariiniksi ja sitä käytettiin ensi alkuun jyrksijämyrkkynä. Kliininen käyttö yleistyi, kun hoitotason seuraamisen tarkkuus kehittyi ja lääkkeen käyttö tuli turvallisemmaksi. (Wardrop & Keeling 2008, 759-761.)

2.3.2 Varfariinin vaikutus hyytymisjärjestelmään

Varfariini toimii K-vitamiinista riippuvaisten hyytymistekijöiden FII (protrombiini), FVII, FIX sekä tekijän FX synteesin estäjänä (Mahlamäki 2004, 321; Joutsu-Korhonen & Koski 2010b, 288). Varfariini estää maksassa K-vitamiinin pelkistymistä, jota tarvitaan edellä mainittujen hyytymistekijöiden sisältämän glutamaatin gammakarboksylaatioon (Kallio & Lassila 2012, 665). Varfariinihoidon aikana maksassa tuotetaan gammakarboksylaation puuttuessa hyytymistekijöitä, jotka eivät ole biologisesti aktiivisia, eivätkä ne siten pysty sitomaan kalsiumia ja fosfolipidejä, jolloin veren hyytymisaika pitenee (Krusius 2000, 519; Kallio & Lassila 2012, 665). Varfariinin vaikutuksesta myös luonnollisten antikoagulanttien, proteiini C:n ja proteiini S:n muodostuminen estyy. Varfariini vaikuttaa hyytymisjärjestelmän koagulanttien ja antikoagulanttien väliseen tasapainoon. (Kallio & Lassila 2012, 665.)

Muutos varfariini-lääkityksen määrässä näkyy tromboplastiiniajassa 2-5 vuorokauden kuluttua. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010b, 288). Viive johtuu hyytymistekijöiden hitaasta puoliintumisajoista (Kallio & Lassila 2012, 665). Lyhyin puoliintumisaika on FVII:llä, 6-7 tuntia, ja muutos INR-arvossa voidaan nähdä jo 24 tunnin kuluttua lääkityksestä. Hyytymistekijöiden FII ja FX pitkästä puoliintumisajasta johtuen tehokas antikoagulaatiovaikutus saavutetaan aikaisintaan 72-96 tunnin kuluttua hoidon aloituksesta. (Lassila ym. 2011, 276.)

2.3.3 Varfariinin käyttö ja hoidon seuranta

Varfariinia käytetään syvän laskimotukoksen ja keuhkoembolian hoitona ja estolääkityksenä sekä sydäninfarktin ehkäisyyn. Varfariinia käytetään myös ehkäisemään verisuonitukkeumia sydäninfarktin tai verisuonikirurgian jälkeen tai jos potilaalla esiintyy eteisvärinää, on jokin sydämen läppäsairaus tai tekoäppä sydämessä. Lääkitys voi olla joko lyhytkestoista tai pysyvää riippuen hoidon syystä. (Lassila ym. 2011, 2753.) Varfariini on tehokasta, se ehkäisee muodostumistavasta riippuen 60-80 % veritulpista (Lassila ym. 2011, 2754).

Monilla lääkeaineilla on yhteisvaikutuksia varfariinin kanssa. Vaikutukset näkyvät joko varfariinin aineenvaihdunnan estymisenä, nopeutumisenä tai hidastumisena tai antikoagulaatiovaikutuksen heikentymisenä. Eri lääkityksiä määrättäessä onkin otettava nämä tekijät huomioon, jotta potilaalle ei aiheudu tukos- tai vuotovaaraa. Muun muassa tulehduskipulääkkeet, asetyylisalisyylihappo ja SSRI-masennuslääkkeet lisäävät vuoto-riskiä. Mikäli näitä lääkkeitä kuitenkin joudutaan käyttämään samanaikaisesti, tulee INR-arvoa kontrolloida ja varfariinin annostusta säädellä tarpeen mukaan. (Lassila ym. 2011, 278-281.)

Varfariinilääkityksen tehoon vaikuttavat myös ravitsemukselliset tottumukset ja muutokset ruokavaliossa. Ravinnosta saatavan K-vitamiinin, jota on mm. vihreissä kasviksissa, määrän pitäisi olla mahdollisimman tasainen, jotta ei aiheutuisi muutoksia lääkituksen tehoon. Lisäksi tupakointi ja runsas säännöllinen alkoholin käyttö nopeuttavat varfariinin aineenvaihduntaa ja näin ollen lisäävät lääkituksen annostarvetta. (Lassila ym. 2011, 279.)

Varfariinihoidon seurannassa tromboplastiiniajan INR-tulostusta varten verinäyte otetaan sitraatti-antikoaguloituun putkeen (Joutsu-Korhonen & Koski 2010b, 288). Normaalitilanteessa, ilman antikoagulanttihoitoa, terveen ihmisen plasman INR -arvo on 0,9-1,1 ja lääkituksen aikana, potilaan diagnoosista riippuen, INR-arvon tavoitetasona on 2-3 tai 2,5-3,5. (Eskelinen 2012; Puhakka 2011, 22; Mahlamäki 2004, 321.) Varfariinin terapeutinen leveys on kapea, mikä tarkoittaa sitä, että pienimmän tehoavan ja suurimman turvallisen hoitoannoksen välinen ero on pieni. (Lawrence 2003, 49-50.) Jos INR-arvo on alle tavoitetason tukosvaara kasvaa (Lassila 2013), mutta toisaalta INR-arvon ylittäessä 4,5 verenvuotovaara suurenee tavanomaiseen hoitotasoon verrattuna

10-kertaiseksi (Mustonen & Lassila 2007, 600-601). Suoranaisessa varfariinin yliannostuksessa INR-arvo on yli 6,5 ja tila vaatii sairaalahoitoa (Puhakka 2011, 27).

Varfariinin antikoagulanttivaikutus voidaan kumota antamalla potilaalle hyytymistekijäkonsentraattia, joka sisältää protrombiinikompleksitiivistettä ja Octaplas®-jääplasmaa. Myös K-vitamiinia (K₁-vitamiini, fytomenadoni) voidaan käyttää varfariinin antagonistina eli vastavaikuttajana, mutta estävä vaikutus saadaan aikaan hitaammin, vasta noin vuorokauden kuluessa. (Kallio & Lassila 2012, 658.)

3 HYYTYMISTUTKIMUSTEN PREANALYTIikka

3.1 Laboratoriotutkimusprosessi

Laboratoriotutkimusprosessi jaetaan kolmeen osa-alueeseen: preanalytiikkaan, analytiikkaan ja postanalytiikkaan. Suurin osa laboratorioissa tehtävistä virheistä tehdään preanalyttisessä vaiheessa. Preanalytiikkaan kuuluvat kaikki osa-alueet ennen analyytistä vaihetta, kuten potilaan valmistautuminen, näytteenotto, näytteiden käsittely, kuljetus ja säilytys. Myös näytteenottotekniikka, oikeanlaiset välineet ja toimintatavat vaikuttavat näytteen laatuun. Näillä tekijöillä onkin suuri merkitys hyytymisnäytteiden tulokseen ja luotettavuuteen, jonka vuoksi niihin pitää kiinnittää erityistä huomiota näytteitä otettaessa. (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 7; Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 276.)

3.2 Potilaan tunnistaminen

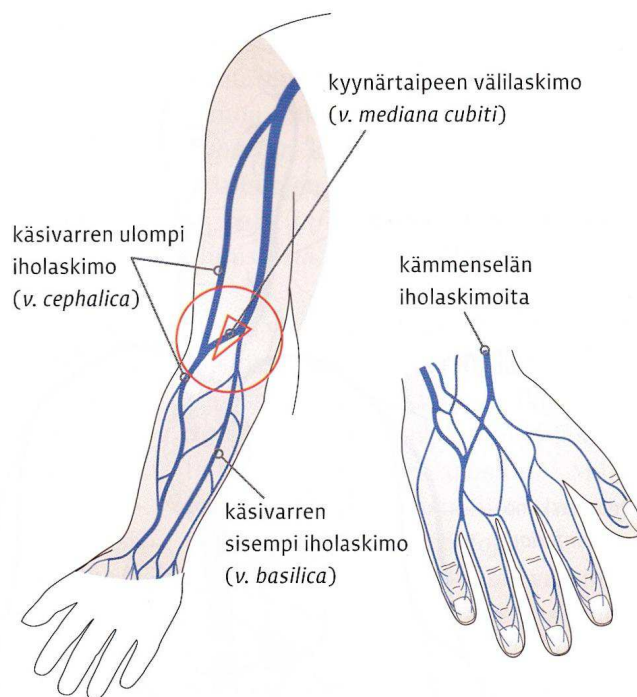
Näytteenottotilanne alkaa potilaan tunnistamisella. Näytteenottajan tehtävänä ja vastuuna on varmistaa, että näyte otetaan oikealta henkilöltä. Myös näytetarrojen ja tutkimuspyyntöjen yhteneväisyys potilaan antamien tietojen kanssa on tarkistettava. Potilasta pyydetään kertomaan itse nimensä ja henkilötunnuksensa. Tunnistamisen apuna voidaan myös käyttää henkilöllisyystodistuskorttia tai potilaan kädessä olevaa henkilöranneketta. Epäselvissä tapauksissa, esim. kieliongelmissa, potilasta voidaan pyytää kirjoittamaan henkilötunnuksensa paperille. Myös potilaan saattaja tai hoitohenkilökunta voivat toimia tunnistajina. (Tuokko ym. 2008, 37-38; Matikainen, Miettinen & Wasström 2010, 37-38.)

Ennen näytteenottoa potilaan olisi hyvä istua rauhassa 15-30 minuuttia, koska näytteenottoa edeltänyt fyysinen rasitus voi aktivoida verihiutaleita ja hyytymisjärjestelmää. Lepäämistä makuuasennossa tulisi kuitenkin välttää, koska ylösnoustaessa verisuonien sisältämää vettä siirtyy kudoksiin, jolloin plasman tilavuus voi pienentyä jopa 12 %. Tästä johtuen suonien sisäisten solujen, kuten verihiutaleiden ja hyytymistekijöiden pitoisuudet voivat suurentua ja johtaa hyytymisajan lyhenemiseen. Myös pitkä seisominen ennen näytteenottoa voi aiheuttaa verihiutaleiden aktivaation. Olisikin hyvä, että näyt-

teenottotilojen odotusaulassa olisi riittävästi istumapaikkoja, jotta näytteenottotapahtuma olisi vakioitu odotustiloista alkaen. (Lawrence 2003, 51.)

3.3 Näytteenottokohdan valinta

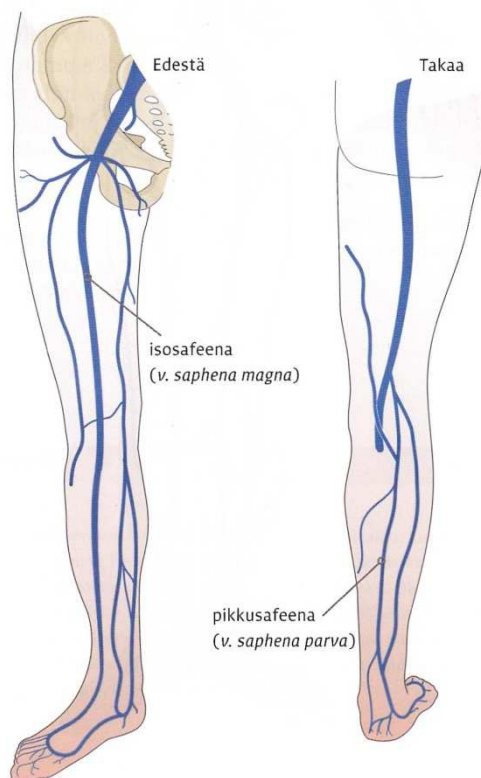
Laskimoverinäytteet pyritään ensisijaisesti ottamaan käsivarren tai kämmenen laskimoista. Tavallisimmin näytteet otetaan kyynärtaipeessa olevista laskimoista, joiden nimet ovat *vena cephalica* eli käsivarren ulompi laskimo ja *vena mediana cubiti* eli kyynärtaipeen välilaskimo (kuva 1). Nämä laskimot ovat isoja ja lähellä ihon pintaa, lisäksi ne ovat useimmiten hyvin näkyvissä. Otettaessa verinäyte näistä suonista aiheutuu potilaalle vähiten kivun tunnetta ja myös riski pistää hermoon tai valtimoon on pieni. Myös käsivarren sisäosassa olevasta *vena basilica* eli käsivarren sisempi laskimo -nimisestä suonesta voidaan ottaa näyte. Tällöin näytteenottokohta pitää kuitenkin varmistaa huolellisesti, ettei tule pistäneeksi valtimoon tai hermoon. Mikäli suonon lähellä tuntuu pulssi hyvin, on syytä valita toinen pistokohta. Verinäyte voidaan ottaa myös kämmenen ja ranteen päällä olevista laskimoista. Ranteen alla olevia laskimoita tulisi välttää pistoksesta aiheutuvan kivun vuoksi. Lisäksi vaarana on pistää ihon pinnalla oleviin valtimoihin ja hermoihin. (Tuokko ym. 2008; 42.)



KUVA 1. Näytteenotossa käytettäväksi suositeltuja kyynärtaipeen ja kämmenselän laskimoita (Kuva: Leppäluoto ym. 2007, 170)

Näytteenoton helpottamiseksi potilasta voidaan pyytää laittamaan kätensä nyrkkiin, mutta käden pumpppaamista ei suositella. Pumpppaaminen saattaa lisätä plasman kaliumpitoisuutta sekä eräiden lihasentsyymien aktiivisuutta. Näytteenottokohtaa ei myöskään saisi kosketella tarpeettomasti, koska on vaarana, että näyte kontaminoituu kudostromboplastiinilla, joka häiritsee hyytymistutkimuksia. (Tuokko ym. 2008; 44.)

Mikäli näytettä ei saada käden laskimoista, voidaan tarpeen vaatiessa käyttää myös jalkaterän päällä olevia laskimoita tai nilkan sisäpuolella olevia laskimoita. Suositeltavin kohta verinäytteen ottamiselle jalasta on *vena saphena magna* eli jalkavarren iso iholaskimo. (Calgary laboratory services 2014.) (kuva 2) Tällöin näytteenottokohdasta on erikseen sovittava hoitohenkilökunnan kanssa ja potilaan hoitotietoihin on tehtävä merkintä näytteenotosta. Alaraajaan pistämiseen liittyy aina trombin muodostumisen vaara, erityisesti jos potilaalla on diabetes tai sydän- tai verisuonitauti. Verinäytettä ei saa ottaa arpisilta hematooma-alueilta, leikatun rinnan puoleisesta kädestä eikä raajasta jossa on valtimolaskimoavanne tai -shuntti. (Tuokko 2010, 27; Ogden-Grable & Gill 2005, 431.)



KUVA 2. Näytteenotossa käytettäväksi suositeltu jalkavarren laskimo *vena saphena magna* (Kuva: Leppäluoto ym. 2007, 170)

3.4 Näytteenotto hyytymistutkimuksia varten

Hyytymistutkimusnäytteet otetaan ensimmäisinä, heti mahdollisen veriviljelyn jälkeen. Verinäytteet pyritään ottamaan ja käsittelemään siten, ettei veren hyytymisjärjestelmä aktivoituisi ennenaikaisesti (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 276). Näyte otetaan 3,2% sitraattia (0,109 mol/l natriumsitraatti) sisältäviin putkiin (Horsti 2002, 14-15). Antikoagulanttina toimiva natriumsitraatti sitoo näytteessä olevaa kalsiumia, jolloin veren hyytyminen estyy (Savolainen 2007, 86). Putki täytetään merkkiviivaan asti, jolloin antikoagulantin ja veren suhde on oikea. Mikäli verinäyte otetaan siipineulaa käyttäen, otetaan ensin ns. hukkaputki, jotta vältetään siipineulan letkussa olevan ilman aiheuttamalta putken alitäytöltä. Vajaaksi jäänyt näyte laimenee liiaksi antikoagulantilla ja aiheuttaa virheellisiä tuloksia pidentämällä näytteen hyytymisaikaa. Toisaalta varsinkin avonäytteenotossa vaarana oleva näyteputken ylitäyttö voi aiheuttaa näytteen hyytymisen. (Favaloro, Funk & Lippi 2012, 3; Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin kuntayhtymän laboratorioliikelaitos 2013.)

Kahta näyteputkea ei myöskään tulisi koskaan yhdistää, jotta saataisiin tarvittava määrä näytettä, koska yhdistäminen lisää näytettä laimentavan antikoagulantin suhteellista määrää (Favaloro ym. 2012, 3). Jos näytteenotto ei onnistu suonesta, voidaan verinäyte ottaa myös mikronäytteenä. Tällöin hyytymistutkimusputkesta pipetoidaan 3,2% natriumsitraattia 25 µl kuivaan mikroputkeen (Microtainer Z) ja verta otetaan 250 µl merkkiin asti. (Fimlab Laboratoriot Oy 2013, Tromboplastiiniaika, INR-tulostus, Laboratoriotutkimusten ohjekirja; Keslab 2013, Työohje P-Tromboplastiiniaika, INR- ja %-tulostus, 1.)

Hyytymistutkimusnäytteet suositellaan otettavaksi ilman puristussidettä eli staasia (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 276) tai sitä saisi pitää laskimon etsimisessä korkeintaan minuutin ajan (Horsti 2002, 15), jotta vältetään hemokonsentraatiolta (Savolainen 2007, 86). Myös trombosyytit, jotkin hyytymistekijät ja fibrinolyysi voivat aktivoitua liiallisen puristussiteen käytön vaikutuksesta. Jo pienetkin näyteputkeen muodostuneet hyytymät kuluttavat veressä olevia hyytymistekijöitä ja johtavat virheelliseen mittaustulokseen. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a, 276; Mahlamäki 2004, 314.) Mikäli puristussidettä joudutaan käyttämään, laitetaan se 7,5 - 10 cm näytteenottokohdan yläpuolelle (Tuokko 2010; 27).

Näytteenottoa laskimo- tai valtimokanyyleista tulisi välttää ja käyttää vain tilanteissa, joissa muulla tavoin ei verinäytettä saada. Kanyylinäytteenotossa on vaarana, että potilaan saamat neste- tai lääkehoidot muuttavat veren koostumusta ja johtavat virheellisiin tuloksiin. Erityisen tärkeää on huolehtia siitä, ettei näytteitä oteta kanyyleista joissa on käytetty hepariinia. Mikäli näyte kuitenkin joudutaan ottamaan kanyylista, on tärkeää, että kanyyli huuhdellaan hyvin fysiologisella suolaliuoksella ennen näytteenottoa. Huuhtelun jälkeen otetaan vielä hukkaputki ennen varsinaisia näyteputkia. (Savolainen 2007, 85.) Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää menetelmää, jossa infuusio keskeytetään vähintään viisi minuuttia ennen näytteenottoa. Lisäksi verta lasketaan hukkaan 5-10 ml tutkimuksesta riippuen tai 5-6 kertaa kanyylin tilavuus. Samaa menetelmää käytetään jos kanyylin aukipitämiseksi on käytetty jotain antikoagulanttia, kuten hepariinia. (Tuokko 2010, 28.)

Verinäytteenotossa voi tulla myös tilanne, jossa potilaalla on infuusio menossa molemmissa käsissä. Tällöin näyte otetaan infuusiokohdan alapuolelta. Alueella ei kuitenkaan saa olla infuusionesteen kudoksiin joutumisen aiheuttamaa turvotusta. Lisäksi infuusio täytyy keskeyttää vähintään 5-10 minuuttia ennen kuin näyte otetaan. Jokaisella laboratoriollla on omat suosituksensa siitä kuinka pitkään tiputuksen on oltava suljettuna ennen kuin veriarvojen katsotaan tasapainottuvan. (Tuokko ym. 2008, 43; Matikainen ym. 2010, 83-84.)

3.5 Näytteenottovälineet, näytteen käsittely ja kuljetus

Hyytymistutkimusnäytteitä otettaessa tulisi neulan koon olla mahdollisimman suuri, joko 21G tai suurempi, ja veren tulisi virrata vapaasti ja tasaisesti suonesta (Mahlamäki 2004, 314). Näyte pitää sekoittaa hyvin heti näytteenoton jälkeen kääntelemällä putkea rauhallisesti ylösalaisin 3-6 kertaa, jotta vältetään hyytymien muodostumiselta. Liian voimakasta sekoittamista tulee kuitenkin välttää, koska se voi aiheuttaa punasolujen hajoamista eli hemolyysiä tai hyytymistekijöiden aktivaatiota ja johtaa siten virheelliseen tulokseen. (Favaloro ym. 2012, 3). Laga, Cheves ja Sweeney (2006) sekä Lippi, Montagnana, Salvagno ja Guidi (2006) havaitsivat hemolyysin pidentävän tromboplastiiniaikaa in vitro. Silminnähden hemolysoituneet näytteet tulisi hylätä käytettäessä fotometrisiä määrittämenetelmiä, koska hemolyysi lisää plasman absorbanssia ja siten häiritsee analyysilaitteen hyytymien havaitsemiskykyä (Favaloro ym. 2012, 6).

Hyytymisnäytteitä otettaessa putkimateriaalin pitää olla sellaista, ettei sen pinta toimi hyytymisjärjestelmän sisäisen reitin aktivoijana. Näytteenotossa käytettäväksi putkimateriaaliksi sopii esimerkiksi polypropyleenistä valmistetut putket. Mikäli käytetään lasi-putkia, pitää putkien sisäpinnan olla käsitelty silikonilla. (CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 7.)

Zürcher ym. (2008) tutkivat sitraatilla antikoaguloidun kokoveren säilyvyyttä mm. TT -määrittämissä varten. He havaitsivat, että TT -määrittämissä voidaan tehdä kokoverenä säilytystä näytteestä vielä 24-28 tunnin kuluttua näytteenotosta ilman että sillä on kliinistä vaikutusta tulokseen. CLSI:n (2008, 13) suosituksen mukaan kokoverenä ja sentrifugoituina, mutta eroteltuna plasmana säilytetyistä näytteistä pitäisi TT- ja INR -määrittämiset tehdä 24 tunnin sisällä. CLSI:n suositusten mukaan näytteitä ei pitäisi säilyttää kylmässä, koska se voi pienentää TT/INR -tuloksia johtuen kylmän aiheuttamasta hyytymistekijä VII:n aktivoitumisesta, von Willebrand -tekijän hajoamisesta tai verihiutaleiden toimintakyvyn muutoksesta (CLSI 2008, 10). Toisaalta myös liian lämmin säilytyslämpötila nopeuttaa hyytymistekijöiden FV ja FVIII hajoamista ja vähentynyt kofaktoriaktiivisuus johtaa tromboplastiiniajan pidentymiseen in vitro (Lawrence 2003, 52). Eroteltu plasma pitäisi pakastaa -20 °C:ssa mikäli analysointia ei voida tehdä 24 tunnin sisällä näytteenotosta (CLSI 2008, 14). Suosituksessa kuitenkin korostetaan, että jokaisen laboratorion pitäisi laatia omat ohjeistuksensa näytteiden käsittelyyn. Fimlab:n ohjekirjan (2013) mukaan tromboplastiiniaikaa varten otettu näyte säilyy kokoverenä näytteenotoputkessa yhden vuorokauden ajan ja erotettuna plasmana 3 vuorokautta huoneenlämmössä.

Hyytymistutkimusnäytteiden sentrifugointinopeudet ja lämpötila ovat olennaisen tärkeitä luotettavan tuloksen saamiseksi. CLSI:n suosituksen (2008) mukaan sentrifugointi pitää tapahtua huoneenlämpöisenä ja sellaisilla kierrosnopeuksilla, joilla saadaan mahdollisimman hyvin eroteltua trombosyytit plasmasta. Tyypillisesti kierrosnopeus ja sentrifugointiaika ovat noin 1500G ja 15 minuuttia. Jokaisen laboratorion pitää kuitenkin itse määritellä tarvittavat kierrosnopeudet ja ajat. Tämän lisäksi myös reagenssivalmistajat antavat omia suosituksiaan (CLSI 2008, 11; Liite 1, Liite 2). Fimlabin toimipisteissä Jyväskylässä käytetään kierrosnopeutena 2700G ja sentrifugointiaika on 10-15 min (Keslab 2013, Tromboplastiiniaika, INR- ja %-tulostus, Työohje, 1) ja Tampereella vastaavat ovat 2000G ja 10 min manuaalisentrifugia käytettäessä (Fimlab Laboratoriot Oy 2014, Tromboplastiiniaika, TT ja INR, Työohje, 1).

4 LAADUNVARMISTUS HYYTYMISTUTKIMUKSISSA

Standardi SFS-EN ISO 15189 kuvaa kuinka voidaan varmistaa kliinisen laboratorion toiminnan hyvä laatu ja tutkimustulosten oikeellisuus. Laboratorion hyvä laatu perustuu koulutetun ja perehdytetyn henkilökunnan osaamiseen, hyvään johtamiskäytäntöön ja toimivaan laatujärjestelmään. Laboratoriotutkimusprosessin analyttisen vaiheen virheen mahdollisuus on kliinisten laboratorioden laatujärjestelmien ja tietokoneistumisen myötä hyvin pieni. (Kairisto 2010, 46-47.) Laboratorion laadunvarmistus on jaettu sisäiseen laadunohjaukseen ja ulkoiseen laadunvarmistukseen (Laitinen 2004, 36).

Sisäisen laadunohjauksen keinoja ovat mm. kontrollit, rinnakkaismääritykset, ns. delta-tarkistus (delta check, saman potilaan perättäisten määritysten analysointi), potilasnäytteiden keskiarvo sekä laitteiden väliset tasoverailut. Kontrolleille on asetettu tietyt sallitut vaihtelurajat, ja näiden kontrollisääntöjen toteutumista seurataan laadunvalvontaohjelmiston avulla. (Keslab 2011a, Laadunvarmistuksen menettelytapaohje, 1-5) Tromboplastiiniajan määrityksen ulkoisen laadunarvioinnin e-kierroksia järjestää Labquality Oy neljä kertaa vuodessa. Laboratoriot saavat analysoitavaksi kullakin kierroksella kaksi plasmanäytettä, joiden tulokset raportoidaan Labquality Oy:lle. (Labquality Oy 2014, Tromboplastiiniaika) Kukin laboratorio saa kierroksen sulkeuduttua raportin, jonka avulla oman laboratorion suoriutumista voidaan arvioida (Laitinen 2004, 38). Tromboplastiiniajan tulostavoiterajat tromboplastiiniajan INR- ja %- tulostukselle ovat keskiarvo $x \pm 15\%$ (Labquality Oy 2014, Tromboplastiiniaika).

Esimerkiksi Jyväskylässä INR-määritys vakioidaan Bioclin:n ISI-kalibraatiokitillä, joka sisältää kalibraattoreina (vakioreagensseina) kaksi antikoagulanttihoitoplasmaa sekä yhden normaaliplasman. Antikoagulanttihoitoplasmojen INR-arvot on määritetty referenssilaboratoriossa Hollannissa Owren's PT -reagenssilla, jonka ISI-arvo on varmennettu vertailemalla WHO:n referenssitromboplastiineihin. Tromboplastiiniajan %-tulos vakioidaan Technoclone-vakioplasmalla. Reagenssierän vaihtuessa ajetaan uuden ISI-kalibroinnin yhteydessä rinnan 10-15 eritasoista potilasnäytettä sekä vanhalla että uudella kalibroinnilla ennen kuin uusi vakiokuvaaja hyväksytään. (Keslab 2013, Tromboplastiiniaika, INR- ja %-tulostus, Työohje, 3, 9-10.)

Hyytymisanalyysien laatua seurataan MediRox:n NKP- (Normal Control Plasma Coagulation GHI162) ja OKP- (Abnormal Control Plasma Coagulation GHI167B) kontroleilla (Keslab 2013, Tromboplastiiniaika, INR- ja %-tulostus, Työohje, 3). NKP-kontrollissa plasma on ihmisperäistä, pakastekuivattua sitraatti-antikoaguloitua normaaliplasmaa, jonka INR-arvo on lähellä yhtä (0,90-1,20). OKP-kontrollissa on ihmisperäiseen plasmaan lisätty naudan plasman proteiinikomponentteja ja kontrollin INR-arvot ovat väliltä 2,3-2,9. Kontrollit ajetaan arkipäivisin 4 kertaa päivässä ja viikonloppuisin kaksi kertaa päivässä (Keslab 2013, Hyytymiskontrollien liuotus ja ajo, Työohje, 1). Laitteiden välinen tulostasoverailu tehdään kerran viikossa, jolloin ajetaan kolme eritasoista INR-näytettä kaikilla laitteilla. Laitteiden poikkeama tulosten keskiarvosta saa olla $\pm 5\%$. (Keslab 2013, Hyytymiskontrollien liuotus ja ajo, Työohje, 2(2).)

5 MÄÄRITYKSISSÄ KÄYTETYT ANALYYSILAITTEET

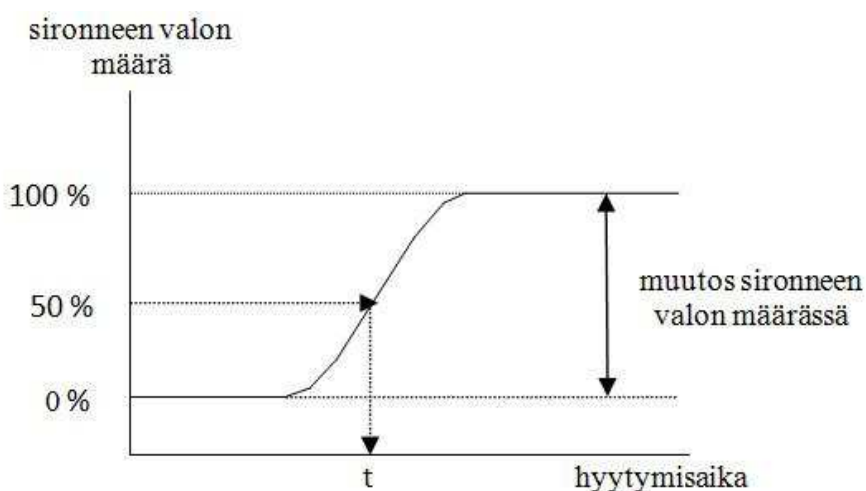
5.1 Sysmex CA-7000 hyytymistutkimusanalysaattori

Jyväskylässä yleisimmät hyytymistutkimusnäytteet analysoidaan Sysmex CA-7000 hyytymistutkimusanalysaattorilla (kuva 3), joka on otettu käyttöön vuonna 2011 (Keslab 2011b, Sysmex CA-7000 –hyytymisanalysaattorin ja Siemensin hyytymisreagenssien validointiraportti, 1). Varalaitteina on kaksi Sysmex CA-1500 analysaattoria. Sysmex CA-7000 on täysautomaattinen näyteputken korkin lävistävä analysaattori, joka kykenee tekemään tunnissa viisisataa TT/APTT määrittystä (Siemens Healthcare 2014). Sysmex-analysaattori käyttää tromboplastiiniajan mittaamiseen nefelometrista menetelmää (henkilökohtainen tiedonanto laboratoriohoitaja, hematologian tiimivastaava Leena-Kaisa Mäkinen 11.8.2014). Nefelometria on fotometrinen mittaustekniikka, jossa näytteeseen johdetaan polarisoitua valoa, joka siroaa näytteessä olevista pienistä partikkeleista, jolloin valon kulkusuunta muuttuu alkuperäisestä. Tätä alkuperäisestä kulkusuunnastaan poikkeavan, sironneen valon määrää mitataan. (Åkerman ym. 2010, 58.)



KUVA 3. Sysmex CA-7000 hyytymistutkimusanalysaattori, Siemens Healthcare.

Analyysiä varten laite laimentaa näytteen 1:21 ja lämmittää sen 37 asteeseen. Lämmityksen jälkeen näytteeseen lisätään reagenssi ja hyytymän muodostumiseen kulunut aika mitataan 660 nm valon aallonpituudella. Veren hyytymisessä plasman sameus muuttuu, kun fibrinogeeni muuttuu fibriniiksi, ja analysaattori havaitsee tämän sironneen valon määrän muutoksena. Sironneen valon muutoksesta laite muodostaa hyytymiskäyrän, josta hyytymisaika saadaan ns. prosentuaalisen havaitsemismenetelmän (percentage detection method) avulla. Tämä tarkoittaa sitä, että sironneen valon määrä on 0 % silloin kun reagenssi on juuri lisätty, mutta ennen kuin hyytyminen on vielä alkanut. Hyytymistapahtuman lopussa, kun fibrinogeeni on muuttunut fibriniiksi on sironneen valon määrä 100%. Aika, joka analysoitavalta näytteeltä kestää muutokseen, hyytymän muodostumiseen, saadaan muodostuneelta hyytymiskäyrältä 50% kohdalta. (kuvio 3) (Keslab Työohje P-Tromboplastiiniaika, INR- ja %- tulostus 2013, 1; Sysmex CA-7000 Operator's Manual 2009, 10-4, 8-9.)



KUVIO 3. Hyytymisajan määrittäminen hyytymiskäyrältä sironneen valon määrän muutoksena. (Kuvio: mukailen Sysmex Corporation 2009, 4)

Sysmex-analysaattorissa on käytössä MediRoxin Owren's PT (Prothrombin Complex reagent) kylmäkuivattu reagenssi, joka koostuu kanin tromboplastiinista ja naudan plasmasta saadusta fibrinogeenista ja hyytymistekijä FV:stä. Reagenssista puuttuvat hyytymistekijät FII, FVII ja FX. Reagenssin säilöntäaineena on pieni määrä natriumat-sidia (NaN_3), joka on erittäin myrkyllistä ja se pitää huomioida reagenssia käsiteltäessä. Reagenssi ei ole herkkä bilirubiinille $\leq 0,5$ g/l, triglyserideille (lipemia) ≤ 10 g/l, hemoglobiinille ≤ 10 g/l ja fraktioimattomalle hepariinille ≤ 1 IE/ml. (Liite 1)

MediRoxin Owren's PT- reagenssia voidaan käyttää sekä 1- että 2-komponentti-reagenssi-menetelmässä. Kahden komponentin menetelmässä pakastekuivattuun reagenssiin lisätään 5 ml tislattua vettä ja kymmenen minuutin kuluttua lisätään vielä 5 ml kalsiumkloridia (CaCl_2). Yhden komponentin menetelmässä kalsiumkloridi lisätään reagenssiin jo liuotusvaiheessa. Mittauksessa lisätään PT-reagenssi. (Liite 1). Sysmex-analysaattorilla käytetään yhden komponentin reagenssimenetelmää (Keslab 2013, P-tromboplastiiniaika, % ja INR-tulostus, Työohje, 2).

5.2 Stago STA-R Evolution hyytymistutkimusanalysaattori

Tampereella hyytymistutkimukset tehdään Stagon STA-R Evolution -laitteilla (kuva 4), jotka on otettu käyttöön vuonna 2011 (Laboratoriokeskus FM4 2011, 3). Hyytymisaikaa mitataan plasman viskositeetin muutokseen perustuvalla menetelmällä. Laimennettuun ja esilämmitettyyn näytteeseen lisätään tromboplastiinia ja hyytymiseen kulunut aika määritetään. Plasman viskositeetin muutosta havainnoidaan mittakylvetissä olevan, elektromagneettisessa kentässä liikkuvan metallikuulan avulla. Kuulan liike ja ajan mitaus aloitetaan aloitusreagenssin lisäyksen jälkeen. Näytteen alkaessa hyytyä sen viskositeetti kasvaa ja kuulan liike (amplitudi) vähenee ja lopulta lakkaa kokonaan. Liikettä mitataan koko hyytymistapahtuman ajan ja mittaaminen lopetetaan spesifisen algoritmin perusteella (joskus ennen kuulan liikkeen loppumistakin, kun mitataan heikkoja hyytymiä). (Åkerman, Savolainen, Pelliniemi & Koski 2010, 90-91; Fimlab Laboratoriot Oy 2014, Tromboplastiiniaika, TT ja INR, Työohje, 1.)



KUVA 4. Stago STA-R Evolution -analysaattori, Diagnostica Stago

STA-R Evolution analysaattori käyttää kylmäkuivattua STA-SPA+ -reagenssia, jossa on seoksena kanin tromboplastiinia ja naudan plasmaa. Reagenssissa ei ole hyytymistekijöitä FII, FVII ja FX, mutta siinä on ylimäärin hyytymistekijä FV:tä ja fibrinogeenia. Mikäli analysoitavassa näytteessä on fraktioimatonta hepariinia ≤ 1 IU/ml ei sillä ole vaikutusta tulokseen. (Liite 2)

6 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Opinnäytetyömme on kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus, jossa käsitellään lukuja ja niiden välisiä suhteita. Kvantitatiivisen tutkimuksen ominaisuuksia ovat koejärjestelyjen suunnitelmat sekä aineiston soveltuminen määrälliseen ja numeeriseen mittaamiseen. Ominaisuuksiin lukeutuvat myös aineiston soveltuminen tilastollisesti käsiteltäviksi. Aineistosta saatujen tulosten perusteella tehdään päätelmiä, jotka perustuvat aineiston tilastolliseen analysointiin. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara. 2007, 136.) Määrällisen tutkimuksen peruskäsite on muuttuja, joka voi saada eri arvoja. Tutkimuksissa tulee olla tutkimusongelma, josta johdetaan tutkimuskysymykset, joihin vastaukset saadaan kerätyn aineiston avulla (Kananen 2010, 75, 82.)

Muuttujat ryhmitellään ominaisuuksiensa perusteella neljään ryhmään: nominaali-, ordinaali-, intervalli- ja suhdeasteikollinen muuttuja. Muuttujan ominaisuuksista riippuu millaisia tilastollisia analyysejä ja testejä sille voidaan tehdä. (Kananen 2010; 89.) Intervalli- eli välimatka-asteikolla muuttujien väliset erot voidaan laskea ja suhdeasteikollisella muuttujalla on absoluuttinen nollakohta (Kananen 2010, 90). Opinnäytetyössämme prosentuaalinen TT-NT ja hyytymisaikojen suhdetta kuvaava INR ovat määrällisiä muuttujia eli vähintään välimatka-asteikollisia muuttujia.

Kvantitatiivisessa tutkimuksessa on olemassa perusjoukko, josta tutkimusta varten otetaan otos perusjoukon ollessa suuri. Perusjoukolla tarkoitetaan ryhmää, jota tutkimuksen kohteena oleva asia koskettaa ja josta halutaan tehdä päätelmiä. Tutkimukseen tuleva otos valitaan niin, että se vastaa ominaisuuksiltaan tutkittavaa perusjoukkoa. (Kananen 2010, 96; Kananen 2011, 65.) Tuloksen luotettavuuden kannalta olisi varmintä tutkia kaikki perusjoukon yksilöt, mutta tämä ei ole useinkaan ajallisesti tai taloudellisesti mahdollista. Otskokoon vaikuttavat taloudellisten seikkojen lisäksi perusjoukon heterogeenisyys siten, että mitä suurempi hajonta perusjoukon tutkittavissa muuttujissa on, sen suurempi otos vaaditaan. Tutkittavien muuttujien määrän kasvaessa tulisi myös otoskoon kasvaa. (Kärkkäinen & Högmander 2008, 7-8; Karjalainen 2010, 33-34.)

Analyysien tarkkuusvaatimukset, jotka ovat kullakin analyysillä omanlaisensa, vaikuttavat myös otoskokoon. Jos tutkittavat muuttujat voivat saada paljon erilaisia arvoja esimerkiksi muuttuja A 5 ja muuttuja B 6 erilaista arvoa, tarkoittaa se vaikkapa ristiin-

taulukointia käytettäessä 30 solua, jolloin 150 kappaleen otoskoolla tulee keskimäärin 5 havaintoa per solu, joka alkaa olla tilastollisille testeille riittämätön määrä. Korrelaatioita laskettaessa voidaan otoskokoa puolestaan arvioida korrelaatiokertoimen merkitsevyystaulukkoa apuna käyttäen. Tarkemmin tutkimukseen vaadittava otoskoko voidaan laskea tilastollisilla kaavoilla, mutta tämä edellyttää alustavaa, esimerkiksi esitutkimuksella saatua tietoa perusjoukosta. (Hirsjärvi ym. 2009, 179-180; Kananen 2011, 66-68, 85.)

Opinnäytetyössämme perusjoukkoina ovat INR -määrityksissä käyvät henkilöt Fimlab laboratoriot Oy:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteissä. Näistä perusjoukoista otimme edustavan otannan eritasoisia INR-arvoja sata kappaletta molemmissa toimipisteissä. Otantamenetelmämme oli ns. todennäköisyyteen perustuva ositettu otanta, jota voidaan kutsua myös kiintiöinniksi. Tässä menetelmässä perusjoukko on jaettu ryhmiin (ositteisiin) INR-arvon perusteella, ja kustakin ositteesta poimitaan erikseen satunnaisotos. Ositetun otannan avulla pyritään varmistamaan eri ryhmien edustavuus otoksessa. (Holopainen & Pulkkinen 1995, 22; Kärkkäinen & Högmänder 2008, 10, Kananen 2011, 71.) Eri laitteiden välistä tulostasovertailua varten tarvittiin mahdollisimman eritasoisia näytteitä, ja käyttämällä ositettua otantaa varmistimme sen, etteivät kaikki tutkimukseen tulevat arvot tulisi satunnaisesti esimerkiksi INR 1-2 väliltä. Aivan tasaisesti näytteitä ei kaikista luokista saatu, sillä hoitotason tuntumassa olevia INR-näytteitä oli suhteessa eniten ja ääripäiden arvoja vähiten.

7 OPINNÄYTETYÖN VAIHEET, TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYS

Saimme opinnäytetyön aiheen maaliskuun 2014 alussa Fimlab Laboratoriot Oy:n Keski-Suomen alueen Jyväskylän toimipisteestä (silloin vielä laboratorioliikelaitos Keslab) ja toukokuussa Fimlab nimesi yhteyshenkilön organisaatiossa tutkimuksellemme. Aloimme laatia tutkimussuunnitelmaamme ja kerätä taustatietoa aiheen saatuamme ja viimeistelimme tutkimussuunnitelmamme kesäkuussa työelämän edustajan kanssa pitämämme palaverin jälkeen. Saimme luvan tutkimuksellemme heinäkuussa ja näytteet keräsimme ja analysoimme elokuussa. Aineiston tilastollisen käsittelyn teimme syyskuun alkupuolella. Raportin kirjoittaminen taustatietojen osalta alkoi toukokuussa ja käsikirjoitus oli valmis lokakuussa 2014.

Opinnäytetyömme tarkoituksena on vertailla INR- ja TT-NT- tutkimuksien tulostasoja Fimlab:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden välillä ja tutkimuskysymyksenä on "Onko TT-NT- ja INR- tulostasoissa eroa analysoivien laboratorioden kesken?" Arvioimme myös epäsuorasti kuljetuksen vaikutusta tulostasoon.

8 AINEISTO

Tutkimusta varten kerättiin 11.8.2014 Fimlab:n Keski-Suomen Keskussairaalan päivittäin tutkittavista, jo esikäsitellyistä ja analysoiduista näytteistä INR-arvon perusteella mahdollisimman eritasoisia näytteitä sata kappaletta. Otimme INR-arvot yhden desimaalin tarkkuudella, koska potilastulokset annetaan samalla tarkkuudella (Keslab 2013, Tromboplastiiniaika, INR- ja TT-NT % -tulostus, Työohje, 4; Fimlab Laboratoriot Oy 2014, Tromboplastiiniaika, TT ja INR, Työohje, 3). Näytteistä erotettiin plasma kahteen Eppendorf-putkeen siten, että ensimmäinen putki tuli mukaan opinnäytetyöaineistoon ja toinen putki pakastettiin mahdollista myöhempää tutkimuskäyttöä varten. Plasmat erotettiin pasteur-pipetillä niin, ettei putken pohjalla olevia verisoluja päässyt sekoittumaan näytteeksi otettavaan plasmaan. Jätimme näyteputkiin osan plasmasta laboratoriota varten, mikäli potilastuloksia olisi tarvinnut vielä tarkistaa.

Putket numeroitiin yhdestä sataan käyttäen merkitsemistapana 01-0100. Tämä merkitsemistapa valittiin, jotta näytteiden tulokset eivät sekoittuisi tietokonejärjestelmässä potilastuloksiin. Putkien lisäksi vastaava numerointi tuli viivakooditarroihin, jotka pakattiin näyteputkien mukana. Numeroituja tarroja käytettiin Tampereella apuna näytteiden analysoinnissa. Varsinaisia potilastietoja ei plasmaputkiin liitetty. Putket ja tarrat pakattiin pehmustettuina kolmeen pahviseen kuljetuslaatikkoon, jotka lähetettiin huoneenlämmössä postitse Fimlab:n Tampereen toimipisteeseen INR-määrittystä varten. Jyväskylässä kerätyt näytteet analysoitiin Tampereella seuraavan päivän, 12.8.2014, aikana. Yksi putkista oli tyhjentynyt kuljetuksen aikana, eikä se ole mukana aineistossa.

Jyväskylässä analysoiva laite tulostaa samalla INR:n ja TT-NT:n pyynnöstä riippumatta. Tampereella TT-NT-tulos laskettiin erikseen laskukaavalla tätä työtä varten (kemisti Heli Tenkanen, henkilökohtainen tiedonanto 16.6.2014). Tampereella 25.8.2014 näytteet (n=100) valittiin samanlaisin perustein ja käsiteltiin plasman erotuksen ja merkintöjen osalta samoin kuin Jyväskylässä, paitsi että näytteet säilöttiin Eppendorf-putkien sijasta Hitachi-putkiin, koska nämä putket käyvät suoraan Jyväskylän Sysmex CA-7000 hyytymistutkimusanalysaattoriin. Jyväskylää varten emme myöskään tehneet näytetarroja, koska syötimme putkien numerot laitteelle käsin.

Tampereella käytössämme oli potilastulos, jossa vastaus annetaan yli kahdeksan arvoilla tarkkuudella “yli 8” (Fimlab Laboratoriot Oy Tromboplastiiniaika, Työohje, TT ja INR 2014, 3). Emme ottaneet yli kahdeksan arvoja vertailuaineistoomme, koska emme tiedäneet niiden tarkkaa mittaustulosta. Tampereelta näytteet kuljetettiin samoin pakattuna henkilöautolla Jyväskylään ja analysoitiin seuraavana päivänä (26.8.2014).

Moleminsuuntaisella kuljetuksella pyrittiin arvioimaan matkan vaikutusta tulostasoihin. Jos kuljetus olisi suoritettu vain yhteen suuntaan, emme kykenisi sanomaan onko mahdollinen tulostasoero kuljetuksesta vai analysaattorista johtuvaa. Emme kuitenkaan varsinaisesti tutkineet matkan vaikutusta tulostasoon. Jotta kuljetuksen vaikutusta pysyttäisiin tarkemmin arvioimaan, tulisi koejärjestely kuljetuksen osalta olla erilainen.

9 AINEISTON ANALYSOINTI

Tilastollisessa testaamisessa on tarkoitus selvittää jonkin tietyn ennakkokäsityksen tai -olettamuksen paikkansapitävyyttä perusjoukossa. Kun olettamus perusjoukosta tehdään perusjoukosta otetun otoksen perusteella, tulee tutkia ovatko havaitut riippuvuudet ja erot tilastollisesti merkitseviä vai ovatko ne tulleet sattumalta. Ennakkokäsitystä ja sille vaihtoehtoista selitystä nimitetään hypoteeseiksi. Nollahypoteesi H_0 on muotoa: tutkitavien ryhmien välillä ei ole eroa tai riippuvuutta ja vastahypoteesi H_1 muotoa: ryhmien välillä on eroa tai riippuvuus. Nollahypoteesi oletetaan paikkansapitäväksi, ellei tilastollisesti voida muuta osoittaa. Merkitsevyystaso eli p-arvo (significance) ilmaisee todennäköisyyden sille, että nollahypoteesi hylätään virheellisesti. Esimerkiksi p-arvolla 0,05 on 5% riski sille, että tehdään virheellinen tulkinta. Usein riskirajana on käytetty 5%, mutta millä p-arvolla nollahypoteesi hylätään on lopulta valittava aina tapauskohtaisesti. Testin vapausasteet df (degrees of freedom) kuvaavat "vapaiden muuttujien" määrää (Karjalainen 2010, 219-221.)

Opinnäytetyössämme kysymyksenä on "Onko TT-NT- ja INR- tulostasoissa eroa analysoivien laboratorioden kesken?" Parittaista t-testiä varten asetettiin seuraavanlaiset hypoteesit:

H_0 : eri paikassa analysoidut TT-NT- ja INR-tulostasot eivät eroa toisistaan

H_1 : eri paikoissa analysoidut TT-NT- ja INR-tulostasot eroavat toisistaan

Fimlab:n eri toimipisteissä analysoitujen muuttujien TT-NT- (sekunti- ja %-arvo) ja INR-tulospareja tarkasteltiin aluksi graafisesti hajontakuvioilla (scatter plot), jotka tehtiin käyttämällä Microsoft Officen Excel -ohjelmaa. Lisäksi aineistosta määritettiin tunnusluvut: keskiarvo, minimi- ja maksimi-arvot, keskihajonnat ja prosentuaaliset erot parittaisten mittausten välillä $((a-b)/a * 100\%)$. Vertailussa asetettiin Tampereen analysoitava laite vertailukohdaksi. Muuttujakohtaiset keskimääräiset prosentuaaliset poikkeamat vertailuarvosta laskettiin.

Hajontakuvion avulla voidaan tarkastella muuttujien välistä yhteyttä eli riippuvuutta. Riippuvuuden voimakkuutta ja suuntaa mitataan korrelaatiokertoimen avulla. Jos riippuvuus on lineaarista, kertoo korrelaatiokerroin sen kuinka hyvin suora kuvaa pisteiden

sijaintia. Yleisimmin käytetty korrelaatiokerroin on Pearsonin korrelaatiokerroin r , joka saa arvoja -1 ja $+1$ väliltä. Kerroin $r = 1$ kuvaa nousevaa suoraa ja $r = -1$ laskevaa suoraa. Jos muuttujat ovat riippumattomia toisistaan on $r = 0$. Korrelaatiokerroin on herkkä poikkeaville havaintoarvoille, mutta mitä enemmän havaintoja on, sen luotettavammin se kuvaa muuttujien välistä riippuvuutta. Lineaarinen riippuvuus katsotaan voimakkaaksi, kun kertoimen itseisarvo on suurempi kuin $0,7$. Korrelaatiokertoimen neliötä r^2 tai prosentteina $r^2 \cdot 100\%$ kutsutaan selityssasteeksi, ja se kertoo kuinka suuri osa selitettävän muuttujan vaihtelusta voidaan selittää selittävällä muuttujalla. (Karjalainen 2010, 124-125, 128-129.)

Jos muuttujat eivät ole normaalijakautuneet tulee Pearsonin korrelaatiokertoimen sijasta käyttää esimerkiksi Spearmanin järjestyskorrelaatiokerrointa, joka perustuu havaintojen järjestyslukuihin. Se mittaa missä määrin muuttujista X ja Y saatujen havaintojen suuruusjärjestykset vastaavat toisiaan, eikä se ole niin herkkä aineiston yksittäisille poikkeaville arvoille kuin Pearsonin korrelaatiokerroin. Alkuperäisten havaintojen perusteella muodostetaan kaksi uutta muuttujaa siten, että kummankin muuttujan X ja Y havainnot korvataan järjestysluvullaan. Spearmanin järjestyskorrelaatiokerroin on näiden kahden uuden muuttujan välinen Pearsonin korrelaatiokerroin ja Spearmanin korrelaatiokerrointa tulkitaan samoin kuin Pearsonin korrelaatiokerrointa. (Kärkkäinen & Högmänder 2008, 53-56; Karhunen ym. 2011, 88.) Korrelaatiokertoimen merkitsevyydestä tutkitaan korrelaatiokertoimen nolasta eroavuutta, ei muuttujien välistä riippuvuutta, joka tulkitaan korrelaatiokertoimen suuruudesta (Karhunen ym. 2011, 89).

Koska tutkimuksessamme on mitattu erilaisilla laitteilla samojen asiakkaiden/potilaiden plasmanäytteitä, eivät mittaustapahtumat ole riippumattomia toisistaan. Tällöin mitattujen muuttujien keskiarvojen yhtäsuuruutta mitataan verrannollisten parien t -testillä (parittainen t -testi). Testissä lasketaan kullekin havaintoyksilölle mittausparien välinen erotus ja testin avulla tutkitaan eroaako erotusten keskiarvo nolasta. (Karhunen ym. 2011, 70.) Parittaisen t -testin käytön edellytyksenä on, että muuttujaparista muodostettu erotusmuuttuja (mittaus 2 - mittaus 1) on normaalisti jakautunut. Erotusmuuttujan normalisuutta tutkitaan yli 50 havainnon aineistossa Kolmogorov-Smirnovin testillä (Kärkkäinen & Högmänder 2008, 81). Ellei erotusmuuttujan normalisuusoletus ole voimassa, käytetään vähintään järjestysasteikollisille muuttujille parittaisen t -testin parametritonta vastinetta, Wilcoxonin testiä (Wilcoxon Signed-Rank), jolla tutkitaan kahden riippuvan muuttujan jakaumien samanlaisuutta. Testi ottaa huomioon mittausparin

erotuksen merkin lisäksi myös erotuksen suuruuden. Kun kyseessä on toistomittaus, on nollahypoteesi muotoa: mittausten välillä ei ole eroa/muutosta ei ole tapahtunut. (Kärkäinen & Högmander 2008, 101; Karjalainen 2010, 234; Karhunen ym. 2011, 70-71, 80-83.) Aineiston tilastollinen käsittely tehtiin käyttäen Microsoft® Excel- taulukkolaskenta- ja SPSS-tilasto-ohjelmaa (IBM® SPSS® Software 22.0).

10 TULOKSET

Jyväskylässä 11.8. kerättyjen ja analysoitujen näytteiden tromboplastiiniajan sekuntituloksen kaikki määritetyt tunnusluvut (keskiarvo, keskihajonta, minimi- ja maksiarvot) olivat pienempiä kuin samoista näytteistä Tampereella 12.8. saadut tunnusluvut. Tromboplastiiniajan prosenttitulostuksessa erot olivat päinvastaiset, Tampereella tehdyissä analyysissä saatiin pienempiä arvoja. Ainoana poikkeuksena oli, että minimiarvo oli Tampereella suurempi. INR-arvot erosivat niin, että kaikki muut paitsi minimiarvo olivat Tampereella suurempia. Minimiarvoksi saatiin Jyväskylässä ja Tampereella tehdyissä analyysissä sama arvo. Keskimääräinen prosentuaalinen poikkeama Jyväskylän ja Tampereen analysaattoreilla saatujen tulosten välillä oli tromboplastiiniajan sekuntitulostuksessa 22,1 %, prosenttitulostuksessa 3,7 % ja INR -tulostuksessa 9,1 %. (taulukko 1)

TAULUKKO 1. Jyväskylässä 11.8 ja Tampereella 12.8.2014 analysoiduista näytteistä laskettuja tunnuslukuja. Muuttujakohtainen keskimääräinen %-poikkeama vertailuarvosta on laskettu $(a-b)/b * 100\%$, Tampereen hyytymistutkimusanalysointilaboratorion, STA-R Evolutionin antama tulos on valittu vertailukohdaksi.

11.8.2014 Jyväskylä Sysmex CA-7000	Tromboplastiiniaika (s)	Tromboplastiini (%)	INR
keskiarvo	55,5	30,7	2,7
keskihajonta	30,8	31,8	1,6
minimiarvo	18,6	3,1	0,9
maksimiarvo	190,9	139,3	9,8
keskimääräinen prosentuaalinen poikkeama JKL/TRE	22,1	3,7	9,1
12.8.2014 Tampere Stago STA-R Evolution			
keskiarvo	74,0	29,6	3,1
keskihajonta	47,0	27,2	1,9
minimiarvo	21,5	4,0	0,9
maksimiarvo	259,6	117,0	10,3

Tampereella 25.8. kerättyjen ja analysoitujen näytteiden tromboplastiiniajan sekuntituloksen kaikki määritetyt tunnusluvut (keskiarvo, keskihajonta, minimi- ja maksimiarvot) olivat suurempia kuin samoista näytteistä Jyväskylässä 26.8. saadut tunnusluvut. Tromboplastiiniajan prosenttitulostuksessa erot olivat päinvastaiset, Jyväskylässä tehdyissä analyyseissä saatiin suurempia arvoja. Ainoana poikkeuksena oli, että minimiarvo oli Jyväskylässä pienempi. INR-arvot erosivat niin, että kaikki muut paitsi minimiarvo olivat Tampereella suurempia. Minimiarvoksi saatiin Jyväskylässä ja Tampereella tehdyissä analyyseissä sama arvo. Keskimääräinen prosentuaalinen poikkeama Tampereen ja Jyväskylän analysaattoreilla saatujen tulosten välillä oli tromboplastiiniajan sekuntitulostuksessa 21,5 %, prosenttitulostuksessa 2,2 % ja INR -tulostuksessa 8,8 %. (taulukko 2)

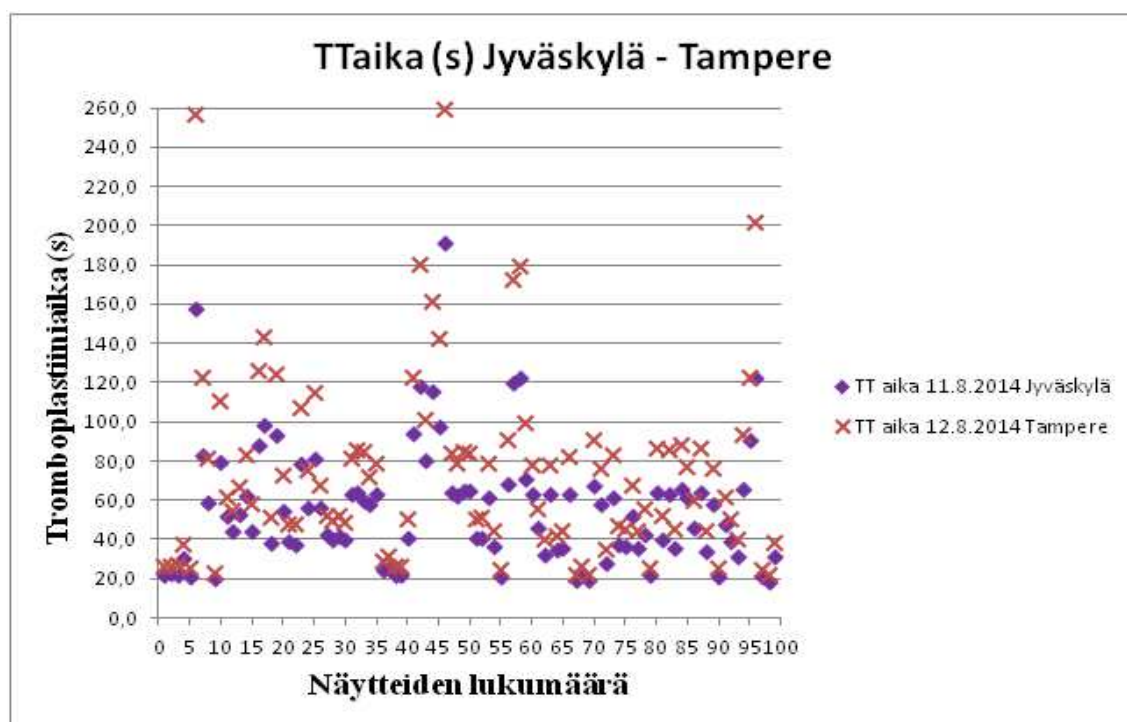
TAULUKKO 2. Tampereella 25.8 ja Jyväskylässä 26.8.2014 analysoiduista näytteistä laskettuja tunnuslukuja. Muuttujakohtainen keskimääräinen %-poikkeama vertailuarvosta on laskettu $(a-b)/b * 100\%$, Tampereen hyytymistutkimusanalysointilaboratorion, STA-R Evolutionin antama tulos on valittu vertailukohdaksi.

25.8.2014 Tampere Stago STA-R Evolution	Tromboplastiiniaika (s)	Tromboplastiini (%)	INR
keskiarvo	61,9	32,8	2,6
keskihajonta	29,7	29,2	1,2
minimiarvo	20,5	6,0	0,9
maksimiarvo	171,3	132,7	6,9
keskimääräinen prosentuaalinen poikkeama JKL/TRE	21,5	2,2	8,8
26.8.2014 Jyväskylä Sysmex CA-7000			
keskiarvo	47,2	33,1	2,3
keskihajonta	20,3	30,1	1,0
minimiarvo	18,4	5,3	0,9
maksimiarvo	124,2	144,5	6,3

Havaitut erot tulosten välillä olivat samansuuntaisia riippumatta siitä kummassa paikassa ensimmäinen mittaus suoritettiin. Niiltä osin kuin eroja löytyi, olivat Tampereella

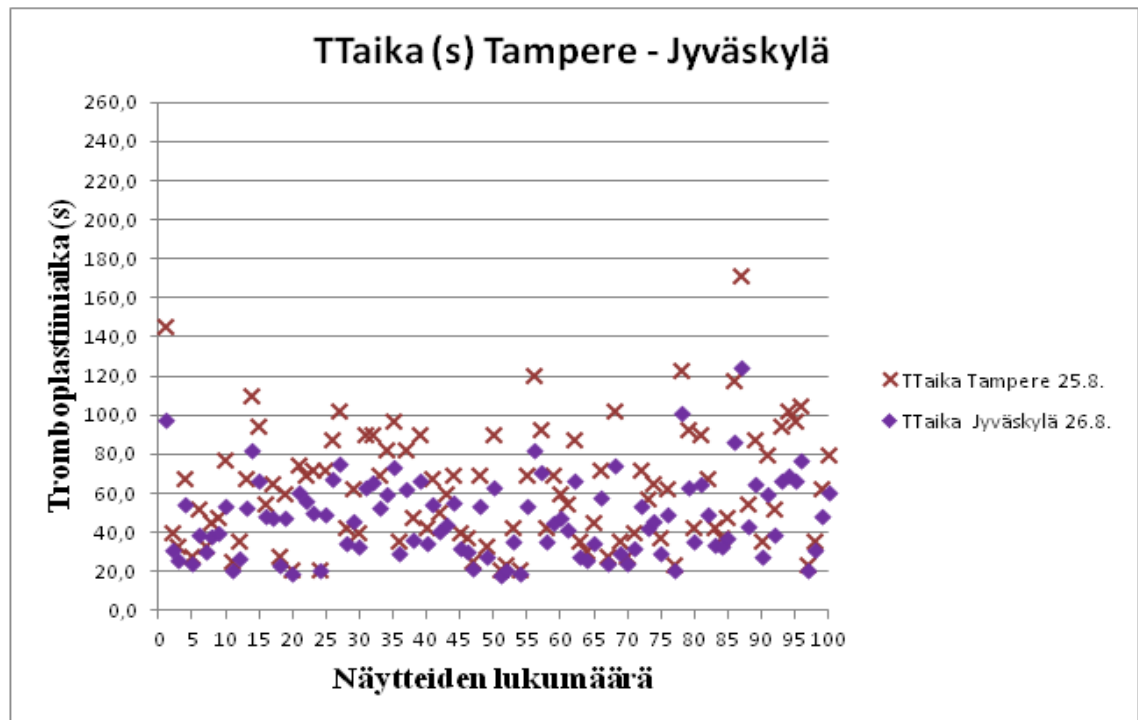
mitatut tromboplastiiniajan sekuntitulostuksen ja INR -tulostuksen arvot hieman suurempia kuin Jyväskylässä mitatut. Tromboplastiiniajan prosenttitulostuksessa saatiin Jyväskylässä hieman suurempia arvoja, lukuunottamatta minimiarvoa.

Tarkasteltaessa yksittäisiä tromboplastiiniajan sekuntitulostuksen arvoja 11.8. Jyväskylässä ja 12.8. Tampereella analysoiduista näytteistä on hajontakuvion avulla selkeästi havaittavissa Tampereella saadut korkeammat arvot (kuvio 4). Erot ja hajonta analyysintapaikkojen välillä pääsääntöisesti kasvoivat tromboplastiiniajan sekuntitulostuksen arvon ollessa suurempi.



KUVIO 4. Jyväskylässä 11.8.2014 ja Tampereella 12.8.2014 analysoitujen näytteiden tromboplastiiniajan sekuntitulostusarvot.

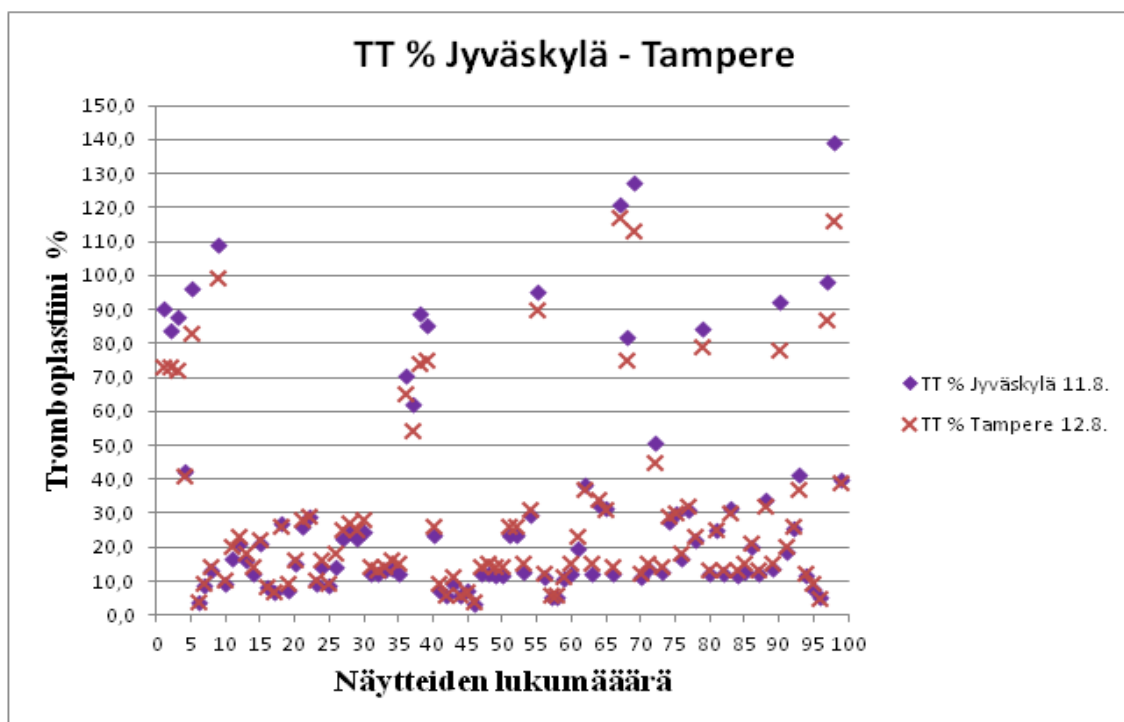
Tampereella 25.8. kerätyissä ja seuraavana päivänä Jyväskylässä analysoiduissa näytteissä on havaittavissa samansuuntainen ero kuin analysoidaessa näytteet ensin Jyväskylässä. Tromboplastiiniajan sekuntitulostukset saivat Tampereen Stago STA-R Evolution analyysointilaitteella pääsääntöisesti korkeampia arvoja kuin Jyväskylän Sysmex CA-7000 analyysointilaitteella (kuvio 5).



KUVIO 5. Tampereella 25.8.2014 ja Jyväskylässä 26.8.2014 analysoitujen näytteiden tromboplastiiniajan sekuntitulostusarvot.

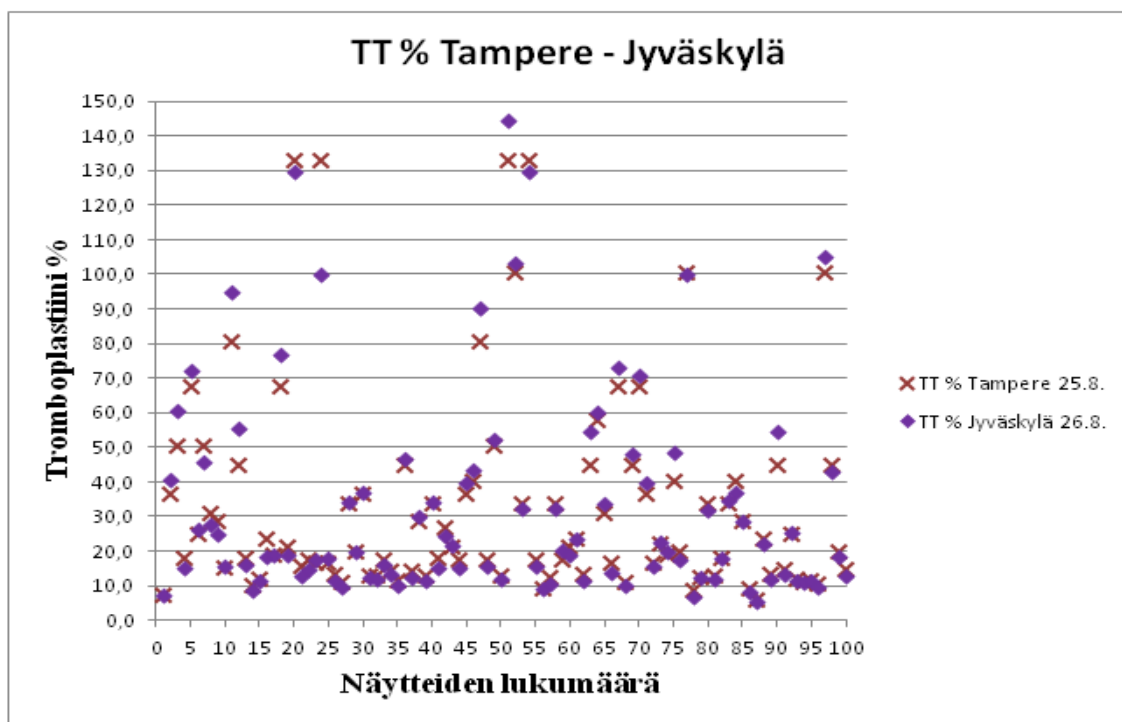
Jyväskylässä 11.8. kerättyjen näytteiden tromboplastiiniajan sekuntituloksien suurimman ja pienimmän arvon välinen ero on suurempi kuin Tampereella 25.8 kerättyjen näytteiden. Tampere - Jyväskylä -suuntaan analysoitujen näytteiden arvot jakautuivat pienemmälle alueelle kuin Jyväskylä - Tampere -suuntaan analysoitujen.

Tromboplastiiniajan prosenttitulostuksessa eivät erot analysaattoreiden ja paikkakuntien välillä olleet hajontakuvion perusteella yhtä selviä kuin TT-ajan sekuntitulostuksessa. Jyväskylässä 11.8 kerättyjen näytteiden tulokset olivat korkeammilla arvoilla suurempia kuin samasta näytteestä saatu arvo oli Tampereella (kuvio 6). Hajontakuvion perusteella eivät erot olleet suuria pienemmillä arvoilla. Lisäksi pienemmillä arvoilla tuli Tampereen analysaattorilla hieman korkeampia arvoja.



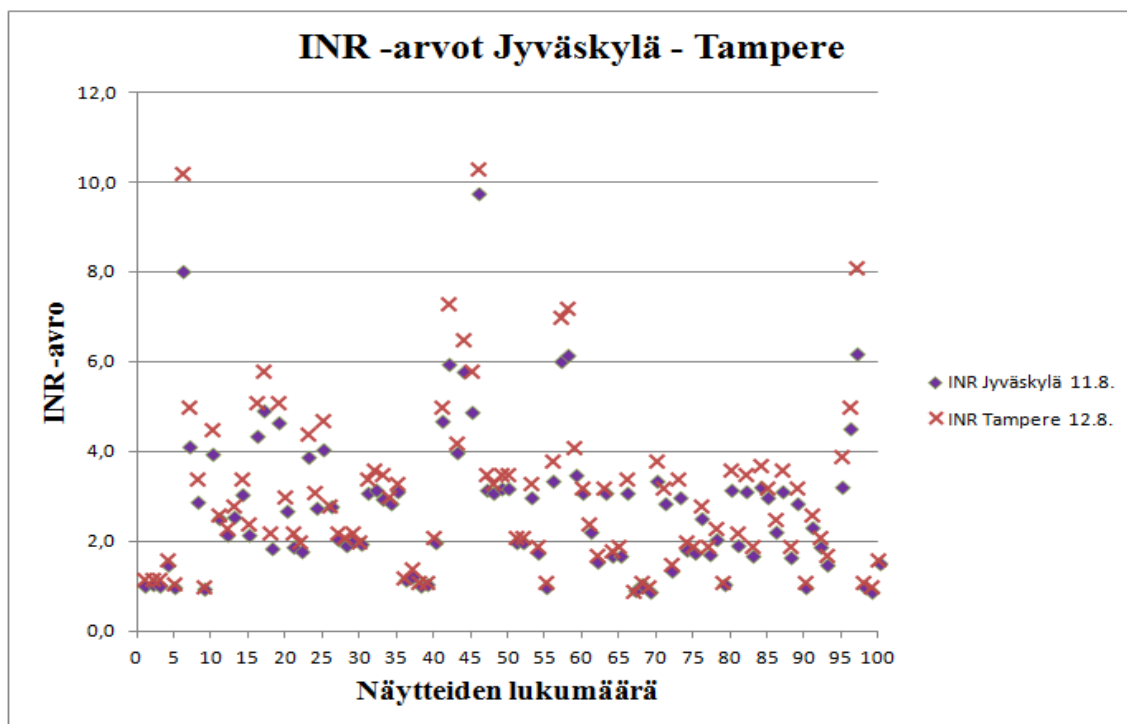
KUVIO 6. Jyväskylässä 11.8.2014 ja Tampereella 12.8.2014 analysoitujen näytteiden tromboplastiiniajan prosenttitulostusarvot.

Tampereen Stago STA-R Evolution analysaattorilla 25.8. määritetyt ja kerätyt näytteet saivat hajontakuvion perusteella vaihtelevasti joko suurempia, pienempiä tai lähes samoja tromboplastiiniajan %-tulostusarvoja kuin analysoitaessa näytteet seuraavana päivänä Jyväskylässä (kuvio 7). Hajontakuviosta on kuitenkin havaittavissa sama suuntaus kuin Jyväskylästä 11.8. kerätyistä näytteistä. Pääsääntöisesti, muutamia poikkeuksia lukuun ottamatta Jyväskylän Sysmex CA-7000 analysaattorilla saatiin suurempia arvoja korkeilla arvoilla. Lisäksi pienempien arvojen kohdalla on havaittavissa sama eroavaisuus kuin Jyväskylästä 11.8. kerättyjen näytteiden tuloksissa, Tampereen analysaattorilla saatiin hieman korkeampia arvoja.



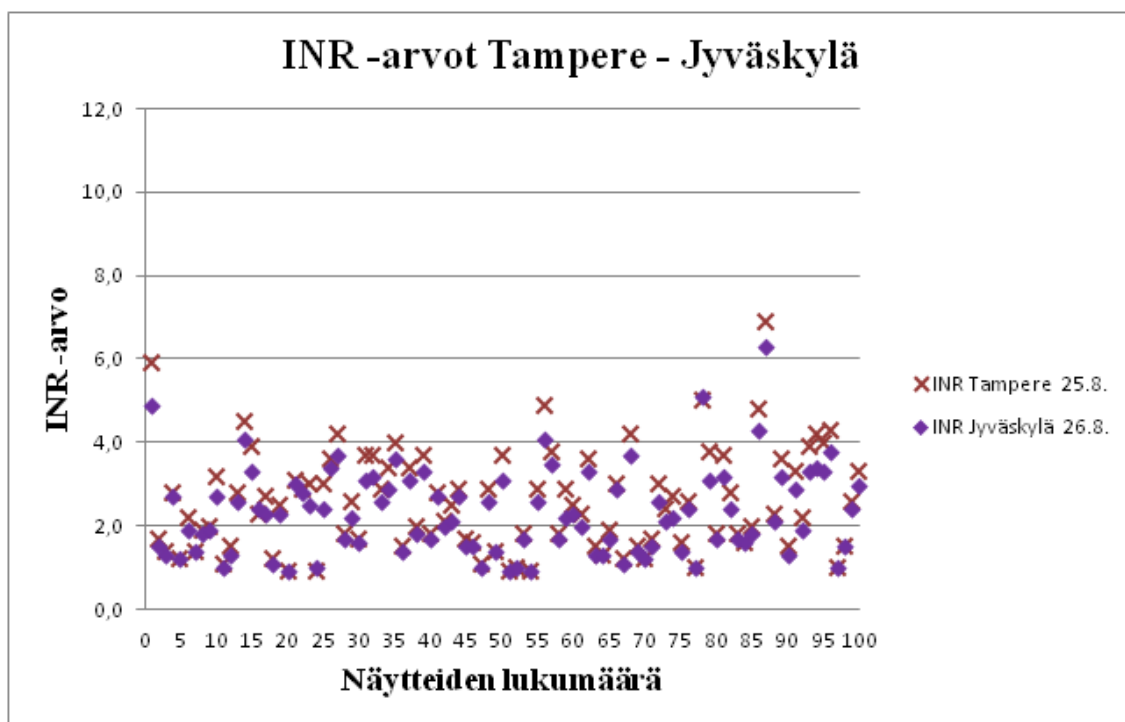
KUVIO 7. Tampereella 25.8.2014 ja Jyväskylässä 26.8.2014 analysoitujen näytteiden tromboplastiiniajan prosenttitulostusarvot.

Tarkasteltaessa yksittäisiä mitattuja INR -arvoja hajontakuvion avulla havaittiin 11. ja 12.8. analysoiduissa näytteissä eroa Jyväskylän ja Tampereen välillä (kuvio 8). Analysoitaessa näytteet Tampereella saatiin suurempia arvoja. Erot ja hajonta määrityspaikkojen välillä pääsääntöisesti kasvoivat sitä enemmän mitä korkeammasta INR -arvosta oli kyse. Pienemmillä INR -arvoilla erot eivät olleet yhtä hyvin havaittavissa.



KUVIO 8. Jyväskylässä 11.8.2014 ja Tampereella 12.8.2014 analysoitujen näytteiden INR-arvot.

Hajontakuvion perusteella Tampereella 25.8. kerättyjen näytteiden INR -arvot jakautuivat kapeammalle tulosalueelle kuin 11.8. Jyväskylästä kerättyjen. Tampere - Jyväskylä analyysituloksista on kuitenkin havaittavissa sama suuntaus kuin Jyväskylä - Tampere tuloksissa. Tampereen Stago STA-R Evolution analysaattorilla saatiin suurempia INR -arvoja kuin Jyväskylän Sysmex CA-7000 analysaattorilla. Erot tulosten välillä olivat myös selvemmin havaittavissa korkeammilla INR -arvoilla (kuvio 9).



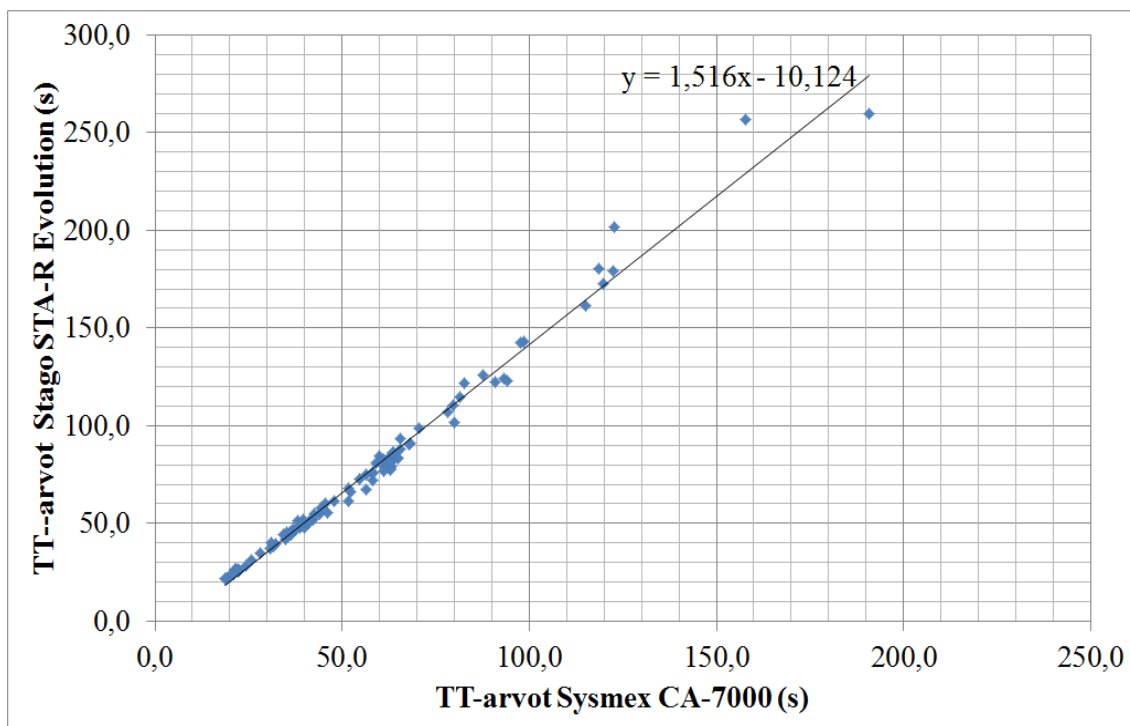
KUVIO 9. Tampereella 25.8.2014 ja Jyväskylässä 26.8.2014 analysoitujen näytteiden INR-arvot.

Yksittäiset muuttujat sekä mittauspareista muodostetut erotusmuuttujat (mittaus 2 - mitaus 1) eivät olleet normaalisti jakautuneet yhtä lukuun ottamatta (taulukko 3), joten käytimme aineiston analysoinnissa ei-parametrisia menetelmiä.

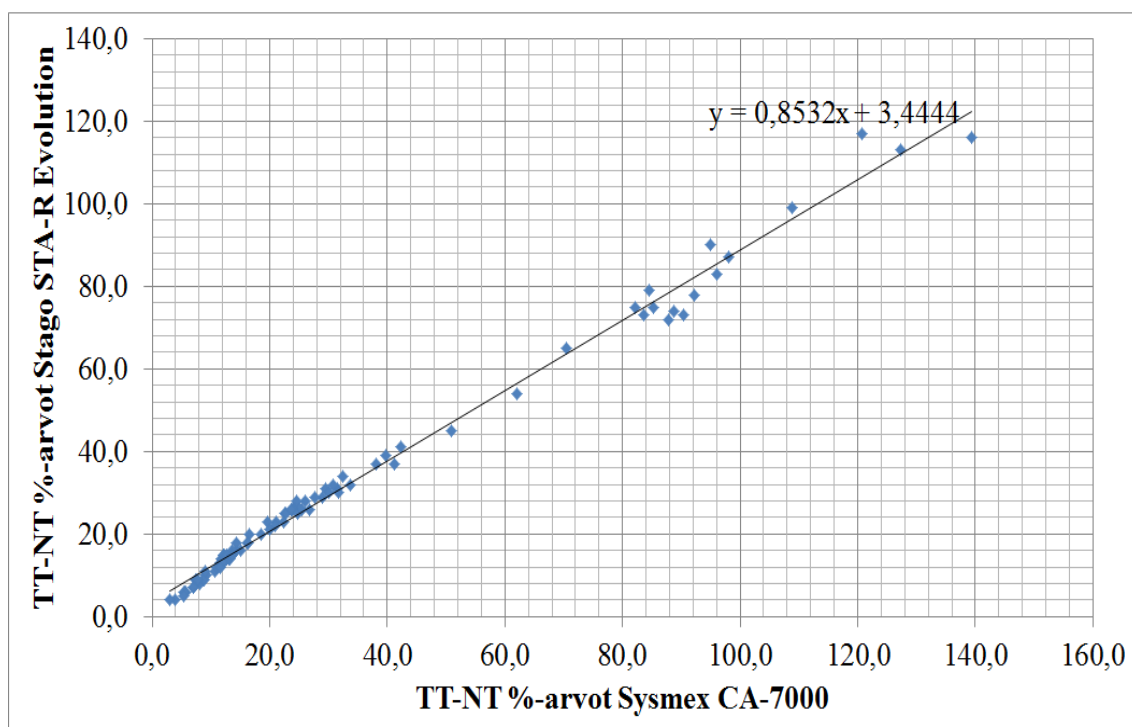
TAULUKKO 3. Muuttujien normaalisuus. TT(s) = tromboplastiiniaika sekunteina, TT(%) = trompolastiiniajan %-tulostus ja INR = tromboplastiiniajan INR-tulostus. Erotusmuuttujat on muodostettu mittausparin erotuksena (mittaus2-mittaus1). df = vapausasteet ja sig. = merkitsevyys. Muuttujat ovat normaalisti jakautuneet jos $p > 0.05$.

Muuttujat	pvm	Kolmogorov-Smirnov		
		Testisuure	df	Sig
TT (s)	11.8.2014	0,158	99	0,000
	12.8.2014	0,163	99	0,000
	25.8.2014	0,106	100	0,007
	26.8.2014	0,093	100	0,033
TT(%)	11.8.2014	0,245	99	0,000
	12.8.2014	0,233	99	0,000
	25.8.2014	0,190	100	0,000
	26.8.2014	0,191	100	0,000
INR	11.8.2014	0,162	99	0,000
	12.8.2014	0,158	99	0,000
	25.8.2014	0,105	100	0,008
	26.8.2014	0,089	100	0,051
erotus_TT(s)	12.8.2014	0,195	99	0,000
	26.8.2014	0,123	100	0,001
erotus_TT(%)	12.8.2014	0,300	99	0,000
	26.8.2014	0,192	100	0,000
erotus_INR	12.8.2014	0,197	99	0,000
	26.8.2014	0,135	100	0,000

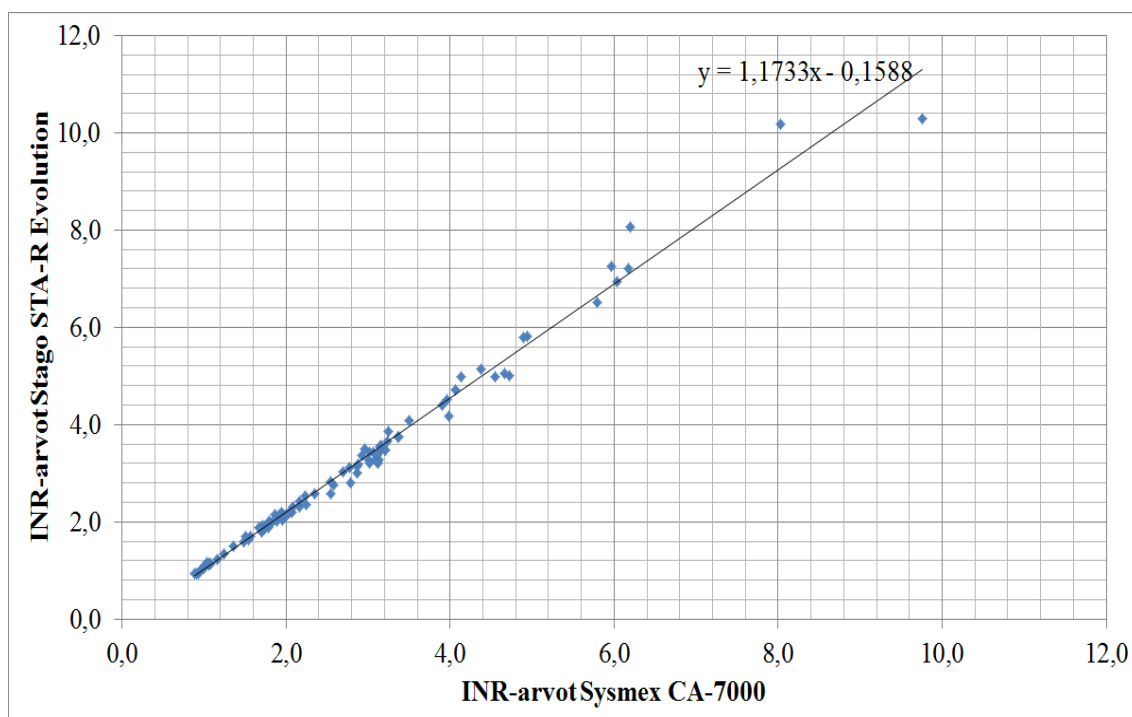
Tromboplastiiniajan sekuntiarvon, tromboplastiiniajan %-tuloksen ja tromboplastiiniajan INR-tulostuksen Jyväskylässä 11.8 ja Tampereella 12.8.2014 suoritettujen mitausten välisten Spearmanin korrelaatiokertoimien r oli 0,994 (kaikkien kolmen) eli muuttujien välillä on voimakas positiivinen lineaarinen riippuvuus (kuviot 10, 11, 12). Selitysasteet olivat kaikki 98,8%. Korrelaatiokertoimien merkitsevyydestien mukaan korrelaatiokertoimet erosivat nolasta tilastollisesti erittäin merkitsevästi (kaikkien kolmen testin $p < 0.001$).



KUVIO 10. Hajontakuvio ja korrelaatio Jyväskylässä 11.8.2014 Sysmex CA-7000 ja Tampereella 12.8.2014 Stago STA-R Evolution -hyytymistutkimusanalysaattoreilla analysoitujen tromboplastiiniaikojen (s) välillä.



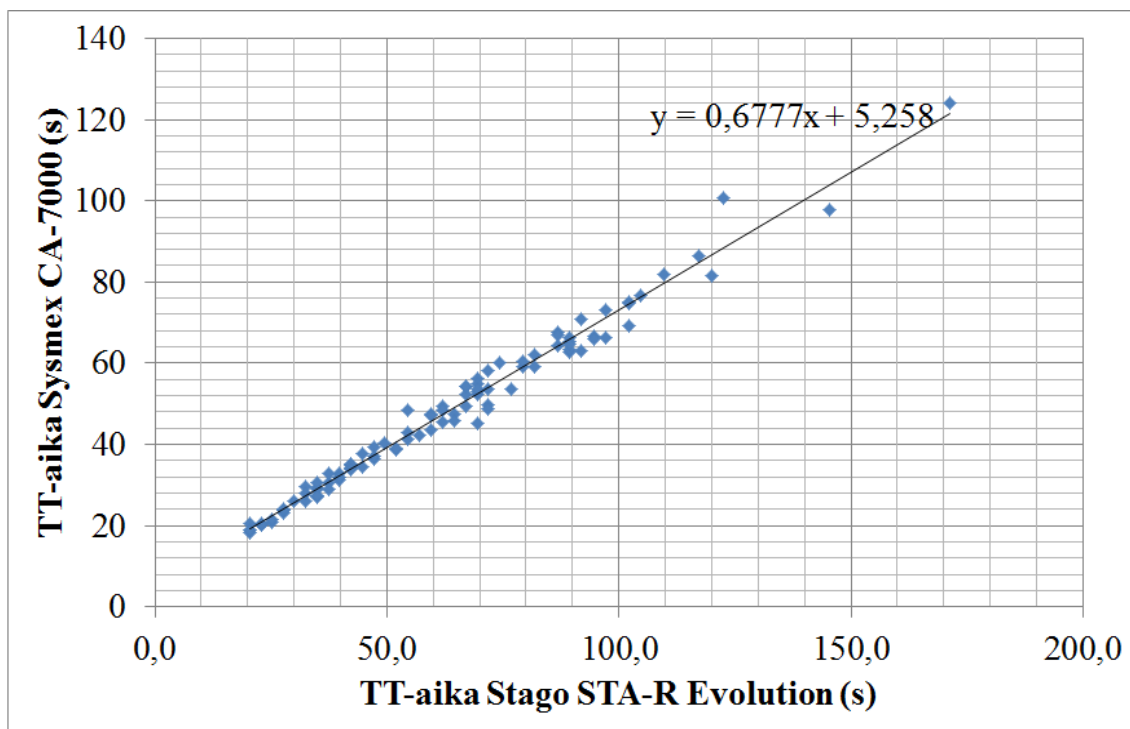
KUVIO 11. Hajontakuvio ja korrelaatio Jyväskylässä 11.8.2014 Sysmex CA-7000 ja Tampereella 12.8.2014 Stago STA-R Evolution -hyytymistutkimusanalysaattoreilla analysoitujen näytteiden tromboplastiiniajan %-tulosten välillä.



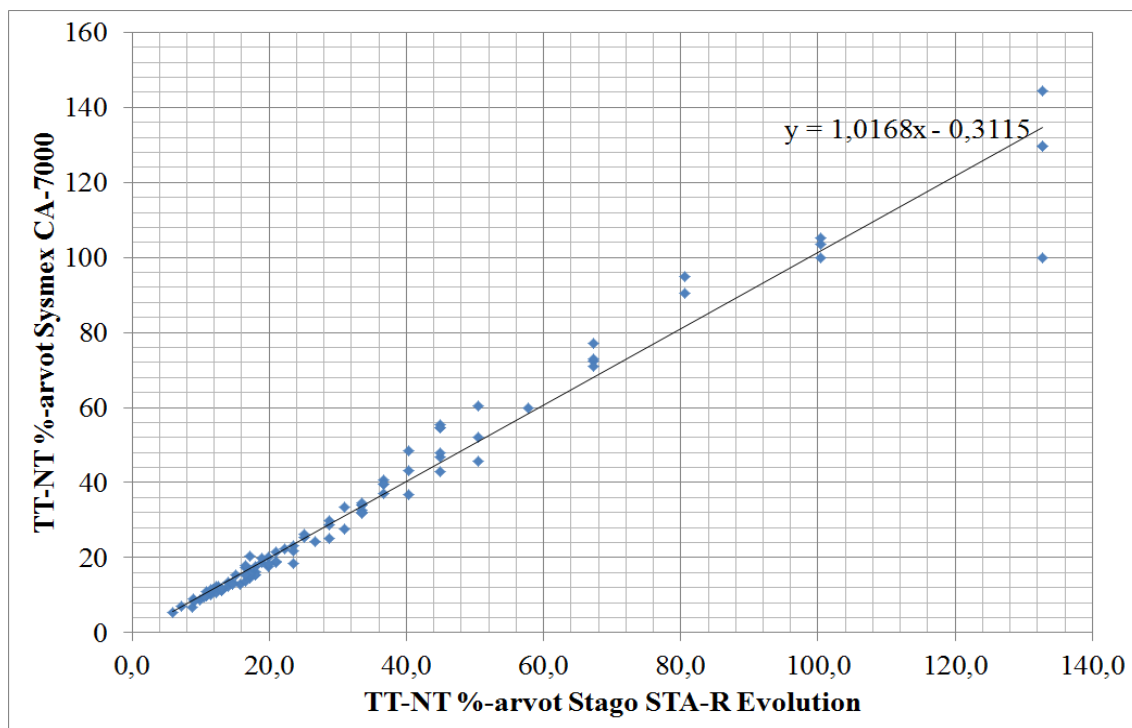
KUVIO 12. Hajontakuvio ja korrelaatio Jyväskylässä 11.8.2014 Sysmex CA-7000 ja Tampereella 12.8.2014 Stago STA-R Evolution -hyytymistutkimusanalysaattoreilla analysoitujen näytteiden tromboplastiiniajan INR-tulostuksien välillä.

Jyväskylässä 11.8.2014 ja Tampereella 12.8.2014 analysoitujen näytteiden tulokset erosivat tilastollisesti erittäin merkitsevästi sekä tromboplastiiniajan sekuntituloksessa (Wilcoxonin merkkitesti, $Z = 8,639$, $p < 0.001$) että tromboplastiiniajan INR-tulostuksessa (Wilcoxonin merkkitesti, $Z = 8,640$, $p < 0.001$). Sen sijaan tromboplastiiniajan %-tulostuksessa tulostasot eivät eronneet merkitsevästi toisistaan (Wilcoxonin merkkitesti, $Z = 1,680$, $p = 0,093$).

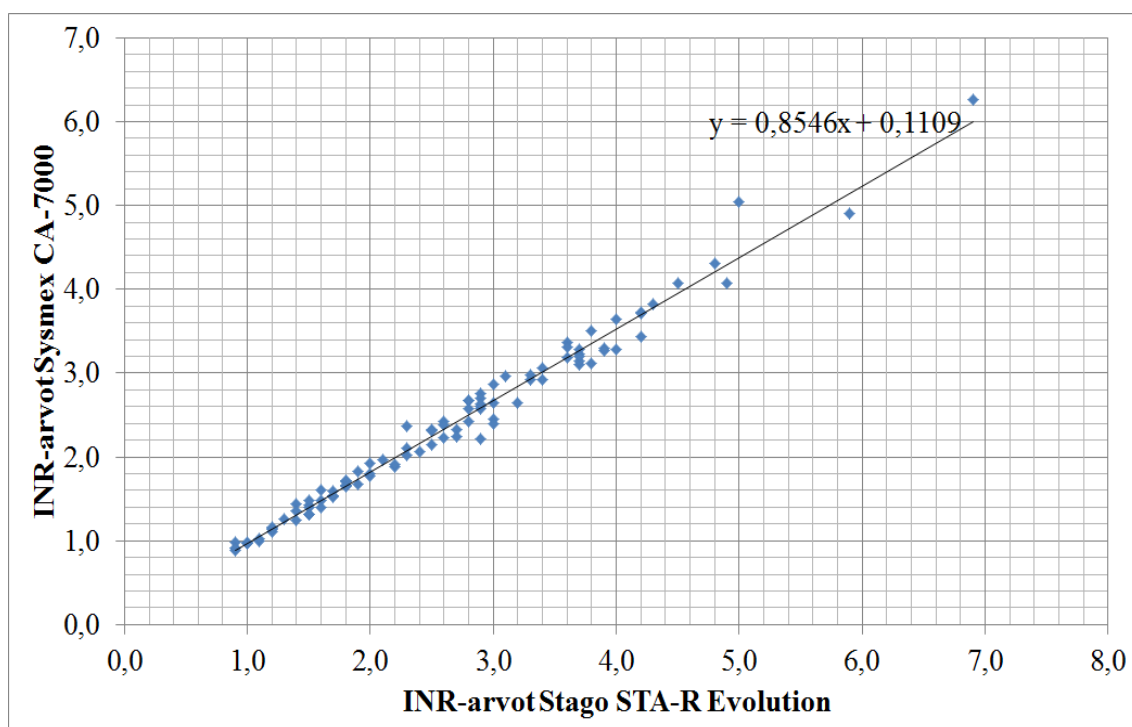
Tromboplastiiniajan sekuntiarvon, tromboplastiiniajan %- ja INR-tulostuksen Tampereella 25.8 ja Jyväskylässä 26.8. 2014 suoritettujen mittausten väliset Spearmanin korrelaatiokertoimet olivat 0,993, 0,991 ja 0,984 eli muuttujien välillä on voimakas positiivinen, lineaarinen riippuvuus (kuviot 13, 14, 15). Selitysasteet olivat 98,6%, 98,2% ja 96,8%. Korrelaatiokertoimen merkitsevyystestien mukaan korrelaatiokertoimet eroavat nolasta tilastollisesti erittäin merkitsevästi (kaikkien kolmen testin $p < 0.001$).



KUVIO 13. Hajontakuvio ja korrelaatio Tampereella 25.8.2014 Stago STA-R Evolution ja Jyväskylässä 26.8.2014 Sysmex CA-7000 -hyytymistutkimusanalysaattoreilla analysoitujen tromboplastiiniaikojen (s) välillä.



KUVIO 14. Hajontakuvio ja korrelaatio Tampereella 25.8.2014 Stago STA-R Evolution ja Jyväskylässä 26.8.2014 Sysmex CA-7000 -hyyttymistutkimusanalysaattoreilla analysoitujen tromboplastiiniaikojen %-tulosten välillä.



KUVIO 15. Hajontakuvio ja korrelaatio Tampereella 25.8.2014 Stago STA-R Evolution ja Jyväskylässä 26.8.2014 Sysmex CA-7000 -hyyttymistutkimusanalysaattoreilla analysoitujen tromboplastiiniajan INR-tulostuksien välillä.

Tampereella 25.8.2014 ja Jyväskylässä 26.8.2014 analysoitujen näytteiden tulostaso erosi tilastollisesti erittäin merkitsevästi tromboplastiiniajassa (Wilcoxonin merkkitesti, $Z = -8,639$, $p < 0.001$) ja tromboplastiiniajan INR-tulostuksessa (Wilcoxonin merkkitesti, $Z = -8,433$, $p < 0.001$). Tromboplastiiniajan %-tulostuksen tulostaso ei eronnut Tampereen ja Jyväskylän kesken (Wilcoxonin merkkitesti, $Z = -0,654$, $p = 0,514$).

Kaikki Jyväskylässä Sysmex CA-7000 ja Tampereella STA-R Evolution -hyytymistutkimusanalysointoreilla 11.8-12.8 ja 25.8-26.8.2014 saadut mittaustulokset on taulukoitu liitteissä 3 ja 4.

11 POHDINTA

Opinnäytetyömme tulostasovertailujen perusteella Jyväskylän Sysmex CA-7000 ja Tampereen Stago STA-R Evolution hyytymisanalysaattoreiden välillä on jonkin verran eroa tulostasossa. Varsinainen tulostasero havaittiin tromboplastiiniajan sekuntituloksessa ja tromboplastiiniajan INR-tulostuksessa, Tampereella käytettävä analysaattori antaa pääsääntöisesti korkeampia arvoja. Sen sijaan TT-ajan %-tulostuksessa ei ollut eroja analysaattoreiden tulostason kesken. Riippuvuudet tutkituissa muuttujissa analysaattoreiden välillä erosivat korrelaatiokertoimien merkitsevyydestien mukaan nollasta erittäin merkitsevästi. Korrelaatiokertoimet ja selitysasteet olivat suuria eli analysaattoreiden tulokset vastaavat hyvin toisiaan. Havaitut erot analysaattoreiden välillä eivät ole suuria (TT-% 2,2-3,7% ja INR 8,8-9,1%) eivätkä välttämättä kliinisesti merkitseviä, joten havaitsemillamme tulostaseroilla ei todennäköisesti ole vaikutusta potilaan hoitoon.

Tuloksissamme on mukana myös tromboplastiiniajan sekuntitulos, koska se on lähtökohtana TT-% ja INR -tulostuksille. Tromboplastiiniaika määritetään mittaamalla hyytymiseen kulunut aika ja tulos ilmoitetaan sekunneissa. Mitattu aika ei kuitenkaan ole potilastulos, vaan se saadaan suhteuttamalla sekuntitulos normaaliplasman hyytymisaikaan ja tulos ilmoitetaan potilaalle tromboplastiiniajan prosenttitulostuksena. Suhteuttamalla hyytymiseen kulunut aika normaaliplasman hyytymisaikaan, saadaan poistettua eri reagenssien aiheuttamaa vaihtelua tulosten kesken. Opinnäytetyömme sekuntitulostuksissa on Jyväskylän ja Tampereen käyttämien reagenssien kesken tulostaseroa (TT_s keskimääräinen ero 21,5-22,1%), joka poistui muunnettaessa tulos TT-ajan prosenttitulostukseksi. Tältä osin siis analysaattoreilla/reagensseilla ei näyttäisi olevan vaikutusta potilastuloksiin ja niiden vertailukelpoisuuteen.

Havaitut erot analysaattoreiden välillä johtuvat todennäköisemmin joko laitteesta, mitaustavasta ja/tai reagenssista. Tulostemme perusteella emme voi kuitenkaan sanoa kumpi laite on parempi. Näiden kahden analysaattorin välisestä vertailukelpoisuudesta on kuitenkin viitteitä myös aikaisemmin tehdyn tutkimuksen perusteella. Fischer, Appert-Flory, Jambou ja Toulon (2006) vertasivat Sysmex CA-7000 hyytymistutkimusanalysaattorin suorituskykyä STA-R analysaattoriin ja havaitsivat tulosten vastaa-

van hyvin toisiaan. Esimerkiksi analysaattoreiden INR-tulosten välinen korrelaatio oli $r = 0,990$ ja tromboplastiiniajan %-tulosten välinen korrelaatio $r = 0,952$.

Labquality Oy:n vuonna 2014 järjestämällä tromboplastiiniajan e-kierroksilla (1. ja 2. kierros) tromboplastiiniajan INR- ja % -tulokset on jaettu ryhmiin käytetyn reagenssin mukaan. Reagenssikohtaiset, keskimääräiset INR-tulokset ovat hieman suurempia Tampereen käyttämällä Diagnostica Stago:n SPA -reagenssilla kuin Jyväskylän käyttämällä MediRox:n Owren's PT reagenssilla. Tromboplastiiniajan %-tulostuksen kohdalla tilanne oli pääosin samansuuntainen: Stago:n SPA antoi jonkin verran suuremman %-tuloksen kuin Owren's PT. Opinnäytetyössämme saamamme tulos, jossa Tampereella käytettävä analysaattori antaa pääsääntöisesti korkeampia INR-arvoja kuin Jyväskylän analysaattori on yhdenmukainen vuonna 2014 havaittujen LabqualityOy:n laaduntarkkailukierroksien tulosten kanssa. Tromboplastiiniajan %-tulostuksessa Jyväskylän analysaattorin arvot olivat hieman Tampereetta suuremmat, mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Labquality Oy:n tavoiterajana tromboplastiiniajan %- ja INR- tulostuksessa oli $\pm 15\%$ poikkeama keskiarvosta. Erot Jyväskylän laboratorion saaman TT- ja INR -arvon ja raportin keskimääräisen arvon välillä olivat esimerkiksi kierroksella 1 6,4 % ja -5,7 % välillä, kun analysoitavana oli kaksi erillistä näytettä. Labquality:n raportin (2014) mukaan kierroksille osallistuneiden laboratoriodien tulosten hajonta oli vähäistä ja eri reagenssiryhmien väliset erot suhteellisen pieniä (normaalialue ja varfariinihoitoalueen yläpuolella oleva näyte).

Saamiemme tulosten mukaan INR-arvoissa on tulostasoeroa 8,8-9,1%, jonka suuruisilla poikkeamilla hoidon tavoitetasosta tutkittaisiin potilaan perättäisten mittaustulosten trendiä, ennen kuin Marevan-lääkitystä alettaisiin muuttamaan. Hoitotason alittuessa tai ylittyessä voimakkaasti on usein tarvetta tukilääkitys- tai sairaalahoidolle (Puhakka 2011, 25-27.) Tästä johtuen voinemme sanoa, että jyvaskyläläinen potilas voi tarpeen vaatiessa huoletta käydä INR -mittauksella Tampereella tai päinvastoin.

Erot opinnäytetyömme tulostasoissa olivat aina samansuuntaiset riippumatta näytteiden analysointijärjestyksestä: kuljetimme opinnäytetyössämme näytteitä sekä Jyväskylästä Tampereelle että Tampereelta Jyväskylään. Jos näytteiden kuljetuksella olisi ollut suuri vaikutus (suurempi kuin laitteiden välisellä tulostasoerolla), olisi päinvastainen kuljetussuunta muuttanut tulostason vaikutusta. Mutta koska näin ei käynyt, on kuljetuksen mahdollinen vaikutus pieni verrattuna laitteiden välisen tulostason vaikutukseen. Jos

kuljetus olisi tehty vain yhteen suuntaan, emme olisi voineet mitenkään todentaa vaikuttaako tulostasoon analyysin tekevä laite vai kuljetus. Kuljetuksen vaikutusta olisi voitu paremmin arvioida toisenlaisella koejärjestelyllä. Tämä olisi voitu tehdä esimerkiksi mittaamalla näytteet uudestaan samassa paikassa vuorokauden kuljetuksen jälkeen ja käsittelykontrollina olisi ollut analysointipaikassa sen ajan paikallaan, vakioolosuhteissa säilytetyt näytteet. Opinnäytetyössämme pääkysymyksenä olivat analysaattoreiden väliset tulostasokerot, joten emme tutkineet kuljetuksen vaikutusta tulostasoihin sen tarkemmin. Jatkotutkimusaiheina voisi olla tutkia tulostasovertailun yhteydessä tarkemmin kuljetuksen vaikutusta tulostasoihin sekä laitteiden välistä eroa ääriarvoilla, jossa hajonta vaikuttaisi olevan suurempaa.

Fimlab:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden laitekannat on tarkoitus yhtenäistää ennen pitkää laiteuusintojen myötä. Tutkimuksemme perusteella laitteiden tromboplastiiniajan %- ja INR- tulokset vastasivat vielä toistaiseksi hyvin toisiaan. Jos laitteita uusitaan, on Stago STA-R Evolution hyvä ja sopiva vaihtoehto uudeksi laitteeksi.

12 TUTKIMUKSEN LUOTETTAVUUS

12.1 Reliabiliteetti ja validiteetti

Reliabiliteetti ja validiteetti arvioivat tutkimuksen luotettavuutta, ja ne ovat osa laadukkaan määrällisen tutkimuksen vaatimuksia. Tutkimuksen luotettavuuteen liittyvät tekijät pitää arvioida jo suunnitteluvaiheessa, koska siten voidaan varmistaa työn lopputuloksen luotettavuus. Jälkikäteen ei ole mitään tehtävissä jos esimerkiksi on mitattu tutkimuskysymyksen kannalta vääriä asioita. Luotettavassa tutkimuksessa on tarkkaan määritelty tutkimuksen kohteena oleva perusjoukko, ja otos tästä perusjoukosta on mahdollisimman edustava. Otantamenetelmää käytettäessä on sen käyttö perusteltava riittävän hyvin. Perusteluilla voidaan todistaa, että niiden käyttäjä on ymmärtänyt otantamenetelmien käytännön. (Kananen 2010, 128-129.)

Reliabiliteetti mittaa tulosten pysyvyyttä eli reliabiliteetti on hyvä jos toistettaessa mitaus myöhemmin uudelleen saadaan sama tulos. Sen avulla voidaan myös arvioida satuman vaikutusta saatuihin tuloksiin. Jos tulos on saatu sattumalta, toistomittauksessa on vaikeaa saada samaa tulosta ja tutkimuksen realibiliteetti on huono. (Kananen 2011, 118-120.) Stabiliteetti ja konsistenssi ovat realibiliteetin kaksi osatekijää. Stabiliteetti mittaa mittarin pysyvyyttä ajan kuluessa ja sitä voidaan nostaa suorittamalla mittaukset ajallisesti lähekkäin. Konsistenssi eli yhteneväisyys arvioi sitä kuinka hyvin mittarin eri osatekijät mittaavat samaa asiaa. Konsistenssia voidaan käytännössä arvioida mittaamalla samaa asiaa (muuttujaa) kahdella eri mittarilla. (Kananen 2011, 118-120.)

Validiteetti puolestaan tarkoittaa sitä, että mitataan tutkimuksen kannalta oikeita asioita ja vieläpä oikealla mittarilla. Väärää mittaria käytettäessä tutkimuksen validiteetti on alhainen, mutta realibiliteetti voi olla suuri, toisin sanoen mitataan tarkasti väärin. Validiteetissä voidaan erottaa erilaisia alalajeja, joita ovat mm. sisäinen, ulkoinen ja sisältövaliditeetti. Sisäinen validiteetti kuvaa syy-seuraus-suhdetta mitattujen muuttujien kesken. Onko tietty asia syy jonkin toisen asian tapahtumiselle vai onko sittenkin jokin kolmas, mittaamaton tekijä, joka aiheuttaa havaitun riippuvuuden. Ulkoinen validiteetti puolestaan kuvaa tulosten yleistettävyyttä: kuinka hyvin otos kuvaa ilmiötä perusjoukossa. Sisältövaliditeetti kuvaa mitattujen muuttujien ja saatujen tulosten välistä yhteyttä. (Kananen 2011, 121-123.)

12.2 Tutkimuksen luotettavuuden arviointi kvantitatiivisessa tutkimuksessa

Jotta kvantitatiivisen tutkimuksen reliabiliteetti voidaan todentaa, pitäisi tutkimus kyetä toistamaan mahdollisimman tarkasti uudelleen. Tämä edellyttää sitä, että tutkija on dokumentoinut ja perustellut käyttämänsä ratkaisut riittävän tarkasti. (Kananen 2011, 123.) Pidimme tutkimuksen aikana tutkimuspäiväkirjaa, johon kirjasimme tarkasti ylös kaikki työvaiheemme, ja tämä helpotti asioiden muistamista varsinaista opinnäytetyötä kirjoittaessamme. Olemme raportoineet käyttämämme menetelmät ja perustelleet niiden käytön kussakin tilanteessa.

Tutkimuksen sisäisen validiteetin arvioiminen on ulkoista vaikeampaa, mutta tutkimuksen systemaattista luotettavuutta voidaan parantaa mm. dokumentoimalla tutkimuksen kulku huolellisesti ja suorittamalla aineiston tarkastelua ja analysointia useamman kuin yhden tutkijan voimin (Hirsjärvi ym. 2009, 232-233). Tutkimuksessamme käytetyt mittauslaitteet ovat valideja, akkreditoitujen laboratorioiden päivittäisessä käytössä olevia laitteita, joita huolletaan ja joiden mittaustarkkuutta kontrolloidaan säännöllisesti.

13 TIETEELLINEN KÄYTÄNTÖ JA ETIIKKA

Hyvän tieteellisen käytännön mukaan tutkimus suoritetaan niin aineiston keräämisen, tulosten tallentamisen, tulkinnan kuin esittämisen osalta tiedeyhteisön tunnustamia toimintatapoja käyttäen eli rehellisesti, huolellisesti ja tarkasti (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012, 6). Tutkimuksen tulee olla etukäteen suunniteltu ja kaikki tarvittavat luvat hankittu ennen aineiston keräämistä. Myös tavan, jolla aineisto kerätään, tulisi olla eettistä ja ihmisarvoa kunnioittavaa (Hirsjärvi ym. 2009, 25; Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012, 6). Tutkija ei saa muokata aineistoa niin, että tulos vääristyy, vaan tutkimuksen tulokset tulee esittää objektiivisesti sellaisina kuin ne ovat. Tutkimuksen raportointi ei myöskään saa olla harhaanjohtavaa. (Hirsjärvi ym. 2009, 26.) Varsinaista kirjallista työtä tehdessä tulee lähdemateriaali valita kriittisesti ja toisten tekemiin tutkimuksiin viitata asiaankuuluvasti (Hirsjärvi ym. 2009, 349-350).

Jokainen tutkija vastaa ensisijaisesti itse hyvän tieteellisen käytännön noudattamisesta. Omassa tutkimuksessamme olemme laatineet tutkimussuunnitelman ja saaneet tutkimuksemme suorittamiseen tutkimusluvan. Aineiston olemme keränneet, tallentaneet ja analysoineet huolellisesti. Emme ole vääristelleet tai sepittäneet tuloksia omien tutkimusperiemme mukaisesti, vaan raportoineet ne sellaisina kuin ne ovat. Varsinaista raporttia kirjoittaessamme olemme käyttäneet luotettavia lähteitä, joihin olemme viitanneet asiaankuuluvasti, emmekä ole suoraan lainanneet kenenkään tekstiä.

Opinnäytetyössämme käyttämämme materiaalin eli kokoverestä erotetun plasman saimme todellisista potilasnäytteistä. Työtämme varten emme joutuneet ottamaan potilailta ylimääräisiä näytteitä, emmekä siten tarvinneet eettisen toimikunnan lausuntoa. Eettisen toimikunnan lausunto tarvitaan tutkimuksille, joissa puututaan ihmisen koskemattomuuteen esimerkiksi verinäytettä otettaessa. Tutkimuseettisten toimikuntien tehtävät on määritelty lääketieteellisestä tutkimuksesta annetussa laissa (488/1999 muutoksineen). Potilaille ei aiheutunut opinnäytetyöstämme pitkittynyttä näytteenottoa tai muuta haittaa tai häiriötä. Saadut näytteet ja niihin liittyvät tulokset käsitelimme nimettöminä. Lisäksi postitettavat ja pakastettavat näytteet merkittiin uudestaan juoksevilla numeroinnilla. Myöskään mihinkään lopullisiin tuloksiin ei tullut näkyviin henkilötietoja.

KIITOKSET

Tekijät haluavat kiittää Fimlab Laboratoriot Oy:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden henkilökuntaa avusta tutkimuksen käytännön toteutuksessa sekä käsikirjoitustamme kommentoineita henkilöitä korjausehdotuksista.

LÄHTEET

Calgary Laboratory Services 2014. Blood collection site selection. Luettu 11.9.2014.
<http://www.calgarylabservices.com/education-research/medical-professionals-education/lab-101/blood-collection/site-selection.aspx>

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. Approved Guideline. Fifth edition. CLSI document. H21-A5. Vol 28 No 5

Ebeling, F. 2000. Antitromboottiset hoidot ja trombolyyssihoito. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) Veritaudit. 2. painos. Duodecim. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy, 561-568.

Eskelinen, S. 2012. Tromboplastiiniaika (P-INR). Duodecim. Terveyskirjasto. Luettu 24.4.2014
http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03040

Favaloro, E. J., Funk, D. M. & Lippi, G. 2012. Pre-analytical variables in coagulation testing associated with diagnostic errors in hemostasis. Labmedicine 43: 1-10.

Fimlab Laboratoriot Oy 2013. Ohjekirja. Tromboplastiiniaika, INR-tulostus. Luettu 17.6.2014
http://www.fimlab.fi/lake/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6659;id=11412

Fimlab Laboratoriot Oy 2014. Tromboplastiiniaika, TT ja INR. Työohje. 1-3.

Fischer, F., Appert-Flory, A., Jambou, D. & Toulon, P. 2006. Evaluation of the automated coagulation analyzer Sysmex[®] CA-7000. Thrombosis Research 117: 721-729.

Helin, T., Metso, T., Lassila, R., Mäki, T. & Joutsu-Korhonen, L. 2012. INR-seurannan toteutuminen HUS-alueen perusterveydenhuollossa. Suomen Lääkärilehti 20: 1569-1574.

Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin kuntayhtymän laboratoriolikelaite. 2013. Näytteenotto hyytymistutkimuksia varten HUS-piirin ulkopuolisille laboratorioille. Palvelutuotanto, toimintaohje. Luettu 18.7.2014
http://huslab.fi/preanalytiikan_kasikirja/verinaytteenotto/naytteenotto_hyytymistutkimuksia_varten_husulko.pdf

Hirsh, J. & Fuster, V. 1994. Guide to anticoagulant therapy. Part 2: Oral anticoagulants. American Heart Association. Circulation 89: 1469-1480.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2007. Tutki ja kirjoita. 13. osin uudistettu. painos. Helsinki: Tammi

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. 15 uudistettu painos. Helsinki: Tammi

- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 1995. Tilastolliset menetelmät. Perusteet. 1.-2. painos Weilin +Göös. Porvoo: WSOY:n graafiset laitokset.
- Horsti, J. 2002. Prothrombin Time. Evaluation of Determination Methods. Tampereen yliopisto. Lääketieteen yksikkö. Acta Universitatis Tamperensis; 888. Tampere: Tampere University Press. Väitöskirja.
- Horsti, J. & Uppa, H. 2006. Inaktiivisten hyytymistekijöiden vaikutus oraaliseen antikoagulanttihoitoon (Marevan®). *Kliinlab* 23 (1), 10–13.
- Joutsu-Korhonen, L. & Koski, T. 2010a. Hemostaasin tutkimukset. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 275-284.
- Joutsu-Korhonen, L. & Koski, T. 2010b. Laskimotukostaipumus ja antitromboottisen hoidon laboratorioseuranta. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 285-291.
- Kairisto, V. 2010. Laboratoriotulosten tulkinta. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 35-48.
- Kallio, J. & Lassila, R. 2012. Veren hyytymiseen vaikuttavat lääkeaineet. Teoksessa Koulu, M., Mervaala, E. & Tuomisto, J. (toim) *Farmakologia ja toksikologia*. 8. painos. Kustannus Medicina Oy. Porvoo: Bookwell Oy, 651-679.
- Kananen, J. 2010. Opinnäytetyön kirjoittamisen käytännön opas. Jyväskylä: Jyväskylän ammattikorkeakoulu.
- Kananen, J. 2011. Kvantti: Kvantitatiivisen opinnäytetyön kirjoittamisen käytännön opas. Jyväskylän ammattikorkeakoulu. Tampere: Tampereen Yliopistopaino Oy, Juvenes Print.
- Karhunen, V., Rasi, I., Lepola, E., Muhli, A. & Kanninen, A. 2011. IBM SPSS Statistics. Perusteet. Päivitetty versiolle 18 (PASW Statistics). Oulun yliopisto. Tietohallinto. Uniprint Oulu.
- Karjalainen, L. 2010. Tilastotieteen perusteet. Pii-Kirjat. Keuruu: Otavan Kirjapaino Oy.
- Keslab 2011a. Laadunvarmistuksen menettelytapaohje. 1-5.
- Keslab 2011b. Sysmex CA-7000 –hyytymisanalysaattorin ja Siemensin hyytymisreagenssien validointiraportti. Yhteenvero. 1-11.
- Keslab 2013. Hyytymiskontrollien liuotus ja ajo. Työohje. 1-2.
- Keslab 2013. P-Tromboplastiiniaika, INR-tulostus. P-Tromboplastiiniaika, %-tulostus. Työohje. 1-10.

Krusius, T. 2000. Hankinnaiset hemostaasin häiriöt. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) Veritaudit. 2. painos. Duodecim. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy, 517-535.

Kärkkäinen, S. & Högmänder, H. 2008. Tilastomenetelmien peruskurssi. Jyväskylän yliopisto. Matematiikan ja tilastotieteen laitos. 5. uudistettu painos.

Laboratoriokeskus FM4, keskitetty tuotanto. 2011. Diagnostica Stagon STA-R Evolution –hyytymislaitteiden (2kpl) verifiointiraportti. 1-3

Labquality Oy 2014. Prothrombin Time 1. Tromboplastiiniaika (INR). e-kierros. Lopullinen raportti. 1-5

Labquality Oy. 2014. Prothrombin Time 2. Tromboplastiiniaika (INR). e-kierros. Lopullinen raportti. 1-5

Labquality Oy 2014. Tromboplastiiniajan ulkoinen laadunarviointi. Luettu 10.10.2014. http://www.labquality.fi/fi/laatu-ulkoinen_laadunarviointi_kierroskuvaukset/hematologia/hyytymistutkimukset/4300-tromboplastiiniaika/

Laga, A.C., Cheves, T. A. & Sweeney, J. D. 2006. The effect of specimen hemolysis on coagulation test results. American Journal of Clinical Pathology 126: 748-755.

Laitinen, I. 2004. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Teoksessa Penttilä I. (Toim.) Kliiniset Laboratoriotutkimukset. 1. painos. WS Bookwell Oy, 35-38.

Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 9.4.1999/488. Luettu 4.9.2014 <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1999/19990488>

Lassila, R. 2000. Veren hyytyminen ja fibrinolyysi. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) Veritaudit. 2. painos. Duodecim. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy, 450-460.

Lassila, R. 2012. Marevan-hoito. Luento. Marevan-hoidon valtakunnallinen koulutus ammattilaisille 1.2.2012. Biomedicum. Helsinki.

Lassila, R. 2013. Varfariinihoito. Duodecim. Terveysportti. Lääkärin käsikirja. Luettu 4.9.2014. http://www.terveysportti.fi.ezproxy.jamk.fi:2048/dtk/ltk/koti?p_artikkeli=ykt00151&p_haku=varfariini

Lassila, R., Armstrong E., Halinen, M., Aläck, A., Asmundela, H., Backman, J., Groundstroem, K., Joutsu-Korhonen, L., Kalliokoski, A., Kastarinen, H., Niemi, T., Peltonen, S., Peura, P., Puhakka, J., Rossinen, J., Tatlisumak, T. & Väänänen, H. 2011. Uusien antikoagulanttien hallittu käyttöönotto. Suomen Lääkärilehti 38: 2753-2762 http://www.laakarilehti.fi/files/nostot/2011/nosto38_1.pdf

Lassila, R., Pietilä, K. & Backman, T. 2011. Antitromboottinen lääkehoito. Teoksessa Neuvonen, P., J., Backman, J., T., Himberg, J., Huupponen, R., Keränen, T. & Kivistö, K. (toim.) Kliininen farmakologia ja lääkehoito. 2.painos. Kandidaattikustannus Oy. Helsinki, 265-291

- Lawrence, J. B. 2003. Preanalytical variables in the coagulation laboratory. *LabMedicine* 34: 49-57.
- Leppäluoto, J., Kettunen, R., Rintamäki, H., Vakkuri, O., Vierimaa, H. & Lätti, S. 2007. *Anatomia ja fysiologia. Rakenteesta toimintaan*. 1. painos, 2008. WSOY Oppimateriaalit Oy 2007.
- Lippi, G., Montagnana, M., Salvagno, G. L. & Guidi, G. C. 2006. Interference of blood cell lysis on routine coagulation testing. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 130: 181-184.
- Mahlamäki, E., K. 2004. Hemostaasi. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Porvoo: WSOY. WS Bookwell Oy, 310–321.
- Matikainen, A-M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. *Näytteenottajan käsikirja*. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Mustonen, P. & Lassila, R. 2007. Antitromboottinen ja fibrinolyttinen hoito. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) *Veritaudit*. 3. painos. Duodecim. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy, 596-611.
- Mäkinen, L-K. Laboratoriohoitaja, hematologian tiimivastaava. 2014. Henkilökohtainen tiedonanto. 11.8.2014. Fimlab Laboratoriot Oy, Keski-Suomen alue, Jyväskylä.
- Ogden-Grable, H. & Gill, G. W. 2005. Phlebotomy puncture juncture. Preventing phlebotomy errors - potential for harming your patients. *LabMedicine* 36: 430-433.
- Oksanen, K. 2000. Verenvuoto- ja tukostaipumuksen selvittely. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) *Veritaudit*. 2. painos. Duodecim. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy, 461-471.
- Oksanen, K. 2007. Hankinnaisen vuototaipumuksen selvittely ja hoito. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) *Veritaudit*. 3. painos. Duodecim. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy, 546-560.
- Puhakka, J. (toim.) 2011. *Antikoagulanttihoidon käsikirja*. Ohjeistus varfariinihoidon toteutuksesta. Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos. Luettu 20.8.2014 <http://www.thl.fi/thl-client/pdfs/abe458f9-362b-47bc-abec-9118c09de010>
- Riley, R. S., Rowe, D. & Fisher, L. M. 2000. Clinical utilization of the International Normalized Ratio (INR). *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 14: 101-114.
- Savolainen, E-R. 2007. Verinäytteet ja verenkuvatutkimukset. Teoksessa Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) *Veritaudit*. 3. painos. Duodecim. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy, 85-99.
- Siemens Healthcare 2014. Hemostasis Systems. Sysmex CA-7000. Luettu 19.9.2014. <http://www.healthcare.siemens.com/hemostasis/systems/sysmex-ca-7000>
- Syrjälä, M. 1998. Suositus INR:n käytöstä oraalisen antikoagulanttihoidon laboratorioseurannassa. *Duodecim* 114: 573–575.

Sysmex Corporation 2009. Automated Blood Coagulation Analyzer Sysmex CA-7000. Operator's Manual. Functional description. Chapter 10. Kobe. Japan. 1998-2010. 1-42.

Tenkanen, H. Kemisti. 2014. Henkilökohtainen tiedonanto 16.6.2014. Fimlab Laboratoriot Oy, Keski-Suomen alue, Jyväskylä.

Tuokko, S. 2010. Verinäytteiden otto. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 25-33

Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet -opas näytteiden ottoon varten. Helsinki. Tammi.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. Luettu 5.9.2014. http://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf

Wardrop, D. & Keeling, D. 2008. The story of the discovery of heparin and warfarin. British Journal of Haematology 141: 757-763.

Zürcher, M., Sulzer, I., Barizzi, G., Lämmle, B. & Alberio, L. 2008. Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. Thromb Haemost 99: 416-426.

Åberg, F., Lassila, R. Koivusalo, A-M., Numminen, K., Nuutinen, H. & Mäkisalo, H. 2012. Maksan vajaatoiminta ja hemostaasi - verenvuotovaaran arviointi. Duodecim 128: 1971-1980.

Åkerman, K., Jokela, H. Savolainen, K., Parviainen, M., Savolainen, E-R. & Orpana, A. 2010. Laboratorion perusmenetelmät. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 49-78.

Åkerman, K., Savolainen, E-R., Pelliniemi, T-T. & Koski, T. 2010. Laboratoriolaitteet. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 79-92.

Liite 3. Sysmex CA-7000- ja STA-R Evolution -hyytymistutkimusanalysaattoreiden antamat tulokset. TT= tromboplastiiniaika, %= tromboplastiiniajan prosentuaalinen tulos, INR= tromboplastiiniajan INR-tulostus, 1= Jyväskylä 11.8.2014 ja 2= Tampere 12.8.2014.

1 (4)

nro	TT (s)1	TT (s)2	% 1	%2	INR1	INR2
1	21,5	26,5	90,4	73,0	1,0	1,2
2	22,3	26,5	83,7	73,0	1,1	1,2
3	21,8	26,8	87,8	72,0	1,0	1,2
4	30,8	37,2	42,3	41,0	1,5	1,6
5	20,9	24,9	96,0	83,0	1,0	1,1
6	157,9	256,7	3,9	4,0	8,0	10,2
7	82,8	122,1	8,7	9,0	4,1	5,0
8	59,2	81,1	13,3	14,0	2,9	3,4
9	20,0	23,0	108,8	99,0	1,0	1,0
10	79,6	110,3	9,1	10,0	4,0	4,5
11	51,7	61,5	16,5	20,0	2,5	2,6
12	44,1	54,7	21,1	23,0	2,2	2,3
13	52,4	66,2	16,1	18,0	2,6	2,8
14	62,0	82,7	12,4	14,0	3,1	3,4
15	44,3	57,7	20,9	22,0	2,2	2,4
16	87,7	125,9	8,1	8,0	4,4	5,1
17	98,5	143,4	7,0	7,0	4,9	5,8
18	38,2	51,2	26,8	26,0	1,9	2,2
19	93,4	124,1	7,5	9,0	4,7	5,1
20	54,7	72,6	15,1	16,0	2,7	3,0
21	38,7	47,6	26,1	28,0	1,9	2,0
22	36,9	47,3	28,9	29,0	1,8	2,0

(jatkuu)

nro	TT (s)1	TT (s)2	%1	%2	INR1	INR2
23	78,3	107,2	9,3	10,0	3,9	4,4
24	56,3	75,0	14,4	16,0	2,8	3,1
25	81,6	115,0	8,9	9,0	4,1	4,7
26	56,5	67,1	14,3	18,0	2,8	2,8
27	42,3	52,0	22,5	25,0	2,1	2,2
28	39,9	49,0	24,6	27,0	2,0	2,1
29	42,0	52,3	22,7	25,0	2,1	2,2
30	39,9	48,1	24,6	28,0	2,0	2,0
31	62,9	80,9	12,2	14,0	3,1	3,4
32	63,8	85,7	12,0	13,0	3,2	3,6
33	60,0	84,7	13,1	14,0	3,0	3,5
34	58,2	72,0	13,7	16,0	2,9	3,0
35	63,3	78,9	12,1	15,0	3,1	3,3
36	24,2	28,3	70,4	65,0	1,2	1,2
37	25,7	31,2	62,0	54,0	1,2	1,4
38	21,7	26,3	88,7	74,0	1,0	1,1
39	22,1	26,2	85,3	75,0	1,1	1,1
40	41,0	50,0	23,6	26,0	2,0	2,1
41	94,2	122,7	7,4	9,0	4,7	5,0
42	118,5	180,2	5,6	6,0	6,0	7,3
43	80,0	101,4	9,1	11,0	4,0	4,2
44	115,2	161,5	5,8	6,0	5,8	6,5
45	97,6	142,6	7,1	7,0	4,9	5,8
46	190,9	259,6	3,1	4,0	9,8	10,3
47	63,8	83,9	12,0	14,0	3,2	3,5
48	62,4	78,8	12,3	15,0	3,1	3,3

(jatkuu)

3 (4)

nro	TT (s)1	TT (s)2	%1	%2	INR1	INR2
49	64,7	84,2	11,8	14,0	3,2	3,5
50	64,9	83,6	11,7	14,0	3,2	3,5
51	40,8	50,3	23,8	26,0	2,0	2,1
52	41,0	50,7	23,6	26,0	2,0	2,1
53	61,0	79,0	12,7	15,0	3,0	3,3
54	36,5	44,4	29,5	31,0	1,8	1,9
55	21,0	24,0	95,0	90,0	1,0	1,1
56	68,2	91,0	11,1	12,0	3,4	3,8
57	119,7	172,5	5,5	6,0	6,0	7,0
58	122,4	179,1	5,4	6,0	6,2	7,2
59	70,5	99,0	10,6	11,0	3,5	4,1
60	62,8	77,8	12,2	15,0	3,1	3,2
61	46,0	55,7	19,7	23,0	2,3	2,4
62	32,3	39,7	38,2	37,0	1,6	1,7
63	63,0	77,5	12,2	15,0	3,1	3,2
64	34,9	41,9	32,5	34,0	1,7	1,8
65	35,4	44,3	31,5	31,0	1,7	1,9
66	62,9	81,8	12,2	14,0	3,1	3,4
67	19,4	21,5	120,7	117,0	0,9	0,9
68	22,5	26,2	82,1	75,0	1,1	1,1
69	19,1	21,8	127,3	113,0	0,9	1,0
70	67,8	90,7	11,1	12,0	3,4	3,8
71	58,2	75,7	13,7	15,0	2,9	3,2
72	28,2	34,9	50,9	45,0	1,4	1,5
73	61,2	82,6	12,7	14,0	3,0	3,4
74	37,6	46,8	27,7	29,0	1,8	2,0

(jatkuu)

4 (4)

nro	TT (s)1	TT (s)2	%1	%2	INR1	INR2
75	36,2	45,2	30,1	30,0	1,8	1,9
76	51,8	67,8	16,4	18,0	2,6	2,8
77	35,8	44,0	30,8	32,0	1,7	1,9
78	42,5	55,0	22,3	23,0	2,1	2,3
79	22,2	25,6	84,5	79,0	1,1	1,1
80	63,8	86,5	12,0	13,0	3,2	3,6
81	39,7	52,0	24,8	25,0	1,9	2,2
82	63,4	85,4	12,1	13,0	3,1	3,5
83	35,3	45,3	31,7	30,0	1,7	1,9
84	65,5	88,3	11,6	13,0	3,2	3,7
85	61,1	77,0	12,7	15,0	3,0	3,2
86	45,6	60,1	20,0	21,0	2,2	2,5
87	63,6	86,1	12,0	13,0	3,2	3,6
88	34,3	44,1	33,7	32,0	1,7	1,9
89	58,3	76,4	13,7	15,0	2,9	3,2
90	21,3	25,7	92,2	78,0	1,0	1,1
91	48,0	61,3	18,5	20,0	2,4	2,6
92	39,1	50,2	25,5	26,0	1,9	2,1
93	31,2	39,9	41,2	37,0	1,5	1,7
94	52,3	-	16,2	-	2,6	-
95	65,7	93,4	11,6	12,0	3,3	3,9
96	91,0	122,3	7,8	9,0	4,6	5,0
97	122,8	201,5	5,4	5,0	6,2	8,1
98	20,7	24,4	98,0	87,0	1,0	1,1
99	18,6	21,6	139,3	116,0	0,9	1,0
100	31,7	38,4	39,8	39,0	1,5	1,6

Liite 4. STA-R Evolution- ja Sysmex CA-7000- hyytymistutkimusanalysaattoreiden antamat tulokset. TT= tromboplastiiniaika, %= tromboplastiiniajan prosentuaalinen tulos, INR= tromboplastiiniajan INR-tulostus, 1= Tampere 25.8.2014 ja 2= Jyväskylä 26.8.2014.

1 (4)

nro	TT (s)1	TT (s)2	%1	%2	INR1	INR2
1	145,5	97,8	7,2	7,1	5,9	4,9
2	39,8	31,4	36,7	40,6	1,7	1,5
3	32,5	26,0	50,5	60,5	1,4	1,3
4	66,9	54,2	18,0	15,3	2,8	2,7
5	27,7	23,9	67,3	72,3	1,2	1,2
6	52,1	38,6	25,0	26,2	2,2	1,9
7	32,5	29,7	50,5	45,7	1,4	1,4
8	44,7	37,6	31,0	27,7	1,9	1,8
9	47,1	39,4	28,7	25,1	2,0	1,9
10	76,9	53,8	15,2	15,5	3,2	2,7
11	25,3	21,0	80,6	95,0	1,1	1,0
12	34,9	27,1	44,9	55,4	1,5	1,3
13	66,9	52,2	18,0	16,2	2,8	2,6
14	109,7	81,8	9,9	8,8	4,5	4,1
15	94,5	66,7	11,8	11,4	3,9	3,3
16	54,5	48,3	23,5	18,3	2,3	2,4
17	64,4	47,5	18,9	18,8	2,7	2,3
18	27,7	23,2	67,3	77,0	1,2	1,1
19	59,5	47,5	21,0	18,8	2,5	2,3
20	20,5	19,0	132,7	129,6	0,9	0,9
21	74,4	60,1	15,8	13,0	3,1	3,0
22	69,4	56,1	17,2	14,5	2,9	2,8
23	71,9	49,9	16,5	17,4	3,0	2,5

(jatkuu)

2 (4)

nro	TT (s)1	TT (s)2	%1	%2	INR1	INR2
24	20,5	20,5	132,7	100,0	0,9	1,0
25	71,9	48,9	16,5	17,9	3,0	2,4
26	87,0	67,7	13,1	11,2	3,6	3,4
27	102,1	75,0	10,8	9,8	4,2	3,7
28	42,2	34,1	33,6	34,1	1,8	1,7
29	62,0	45,6	19,9	20,0	2,6	2,2
30	39,8	32,8	36,7	37,0	1,7	1,6
31	89,5	62,7	12,6	12,3	3,7	3,1
32	89,5	65,3	12,6	11,7	3,7	3,2
33	69,4	52,4	17,2	16,1	2,9	2,6
34	81,9	59,2	14,1	13,3	3,4	2,9
35	97,0	73,2	11,5	10,1	4,0	3,6
36	34,9	29,4	44,9	46,7	1,5	1,4
37	81,9	62,0	14,1	12,4	3,4	3,1
38	47,1	36,3	28,7	29,9	2,0	1,8
39	89,5	66,2	12,6	11,5	3,7	3,3
40	42,2	34,1	33,6	34,1	1,8	1,7
41	66,9	54,2	18,0	15,3	2,8	2,7
42	49,6	40,2	26,7	24,3	2,1	2,0
43	59,5	43,7	21,0	21,4	2,5	2,1
44	69,4	54,8	17,2	15,0	2,9	2,7
45	39,8	31,8	36,7	39,5	1,7	1,5
46	37,4	30,5	40,4	43,2	1,6	1,5
47	25,3	21,5	80,6	90,4	1,1	1,0
48	69,4	53,1	17,2	15,8	2,9	2,6
49	32,5	27,9	50,5	52,1	1,4	1,4

(jatkuu)

3 (4)

nro	TT (s)1	TT (s)2	%1	%2	INR1	INR2
50	89,5	63,4	12,6	12,1	3,7	3,1
51	20,5	18,4	132,7	144,5	0,9	0,9
52	22,9	20,3	100,4	103,4	1,0	1,0
53	42,2	35,1	33,6	32,1	1,8	1,7
54	20,5	19,0	132,7	129,6	0,9	0,9
55	69,4	53,5	17,2	15,6	2,9	2,6
56	119,9	81,6	9,0	8,9	4,9	4,1
57	92,0	70,7	12,2	10,6	3,8	3,5
58	42,2	34,9	33,6	32,5	1,8	1,7
59	69,4	45,1	17,2	20,3	2,9	2,2
60	59,5	47,1	21,0	19,0	2,5	2,3
61	54,5	41,3	23,5	23,3	2,3	2,0
62	87,0	66,8	13,1	11,3	3,6	3,3
63	34,9	27,3	44,9	54,6	1,5	1,3
64	30,1	26,1	57,8	60,0	1,3	1,3
65	44,7	34,4	31,0	33,5	1,9	1,7
66	71,9	58,2	16,5	13,7	3,0	2,9
67	27,7	23,8	67,3	72,9	1,2	1,1
68	102,1	74,6	10,8	9,9	4,2	3,7
69	34,9	29,0	44,9	48,0	1,5	1,4
70	27,7	24,1	67,3	71,0	1,2	1,2
71	39,8	31,8	36,7	39,5	1,7	1,5
72	71,9	53,7	16,5	15,5	3,0	2,6
73	57,0	42,4	22,2	22,4	2,4	2,1
74	64,4	45,8	18,9	19,9	2,7	2,2
75	37,4	28,9	40,4	48,4	1,6	1,4

(jatkuu)

4 (4)

nro	TT (s)1	TT (s)2	%1	%2	INR1	INR2
76	62,0	49,5	19,9	17,6	2,6	2,4
77	22,9	20,5	100,4	100,0	1,0	1,0
78	122,4	100,7	8,7	6,8	5,0	5,1
79	92,0	62,9	12,2	12,2	3,8	3,1
80	42,2	35,2	33,6	31,9	1,8	1,7
81	89,5	64,7	12,6	11,8	3,7	3,2
82	66,9	49,4	18,0	17,7	2,8	2,4
83	42,2	33,9	33,6	34,5	1,8	1,7
84	37,4	32,9	40,4	36,8	1,6	1,6
85	47,1	37,0	28,7	28,7	2,0	1,8
86	117,3	86,4	9,2	8,3	4,8	4,3
87	171,3	124,2	6,0	5,3	6,9	6,3
88	54,5	43,0	23,5	21,9	2,3	2,1
89	87,0	64,3	13,1	11,9	3,6	3,2
90	34,9	27,3	44,9	54,6	1,5	1,3
91	79,4	59,2	14,6	13,3	3,3	2,9
92	52,1	39,1	25,0	25,5	2,2	1,9
93	94,5	66,1	11,8	11,5	3,9	3,3
94	102,1	69,3	10,8	10,8	4,2	3,4
95	97,0	66,3	11,5	11,4	4,0	3,3
96	104,6	76,7	10,5	9,6	4,3	3,8
97	22,9	20,2	100,4	105,2	1,0	1,0
98	34,9	30,6	44,9	42,9	1,5	1,5
99	62,0	48,5	19,9	18,2	2,6	2,4
100	79,4	60,4	14,6	12,9	3,3	3,0